Immunologische Beziehung zwischen Adenoviren der Tiere und denen des Menschen im Neutralisationsverfahren

Hans-Friedrich Willimzik

1979

Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
des Fachbereichs Klinische Medizin der Universität des Saarlandes
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. R. Wigand
eingereicht über
das Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr

Immunologische Beziehungen zwischen Adenoviren der Tiere und denen des Menschen im Neutralisationsverfahren

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hans-Friedrich Willimzik
aus
Celle

Homburg 1979

Gedruckt mit Genehmigung

der Tierärztlichen Fakultät der

Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich

Referent: Prof. Dr. DDr.h.c. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. E. Munz

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der Promotion: 27. Juli 1979

Meinen Eltern gewidmet

in Dankbarkeit

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535726_0050

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
2.	SCHRIFTTUM	4
2.1.	Animale Adenoviren und ihr Verhalten im Neutralisationstest (NT)	4
2.1.1	Bovine Adenoviren (BAV)	4
2.1.2.	Ovine Adenoviren (OAV)	8
2.1.3.	Porcine Adenoviren (PAV)	9
2.1.4.	Murine Adenoviren (MAV)	10
2.1.5.	Simiäre Adenoviren (SAV)	12
2.1.6.	Lapine Adenoviren (LAV)	16
2.1.7.	Canine Adenoviren (CAV)	16
2.1.8.	Equine Adenoviren (EAV)	17
2.1.9.	Adenoviren anderer Tiere	18
2.2.	Aviäre Adenoviren	18
2.2.1.	Adenoviren des Huhnes (Fowl Adenoviren - FAV)	19
2.2.2.	Adenoviren der Pute (Turkey Adenoviren - TAV)	20
2.2.3.	Adenoviren der Gans (Goose Adenoviren - GAV)	21
2.3.	Humane Adenoviren (HAV)	21
3.	FRAGESTELLUNG	24
4.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	25
4.1.	Material und Methoden	25
4.1.1.	Virusmaterial	25
4.1.2.	Homologe Seren	25
4.1.3.	Medium	27
4.1.4.	Testseren	27
4.1.5.	Zellkultur	29
4.1.6.	Mikroneutralisationstest (MNT)	36

Seite

4.2. Versuche und Ergebnisse 37
4.2.1. Toxizitätsbestimmung der Testseren 37
4.2.1.1. Serumadsorption an HeLa-Zellen 38
4.2.2. Titerbestimmung der HAV 39
4.2.3. Identitätssicherung der HAV 39
4.2.4. Bisher gefundene Kreuzneutralisationen 40
4.2.5. Ergebnisse im Kreuzneutralisationstest 40
4.2.6. Titerbestimmung bei aufgetretenen Neutralisationen 41
4.2.7. Tabellarische Erfassung der Ergebnisse 42

5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE 49

6. ZUSAMMENFASSUNG 56
Summary 57

7. LITERATURVERZEICHNIS 58

8. LEBENSLAUF 72

1. EINLEITUNG

Auf dem Treffen des " International Committee on Toxonomy of Viruses" im September 1975 in Madrid wurden die Adenoviren (AV) in den Familienstatus erhoben und folgende neue Nomenklatur festgelegt:

Familie: Adenoviridae

Genus: Mastadenovirus (Viren der Säugetiere)
Aviadenovirus (Viren der Vögel)

(Norrby et al., 1976; Fenner, 1976). Hierbei wird in der Gattung Mastadenovirus noch unterteilt in Adenoviren des Menschen und Adenoviren der Tiere.

Die AV gehören zur Gruppe der DNA-haltigen Viren mit einem einzigen, linearen, doppelsträngigen Nukleinsäuremolekül. Sie haben einen Durchmesser von 70 bis 90 nm und die Form eines Ikosaeders mit einer 5-3-2 Symmetrie. Das Virus hat keine Hülle und ist äther- und chloroformstabil, was auf das Fehlen von Lipiden im Aufbau der Viruspartikel hinweist. Es enthält 252 Kapsomeren mit einem Durchmesser von 7-9 nm. Zwölf von ihnen, auch als Pentonbasen bezeichnet, tragen Glykoproteine als filamentartige Fortsätze, die Fiber. Die übrigen 240 Kapsomeren heißen Hexone und sind unterschiedlich von Penton und Fiber.

Die Antigeneigenschaften des Virus sind durch diese oberflächlichen Strukturen gegeben. Hierbei hat das Hexon eine genusspezifische Determinante, die an der Innenseite des Virion lokalisiert ist. Sie ist bei den meisten AV der Mammalia identisch, was die Genusspezifität ausmacht, und unterscheidet sich von dem korrespondierenden Antigen der aviären AV. Eine Ausnahme machen die bovinen AV 4-9, die in der KBR nicht mit den übrigen AV der Mammalia kreuzen. Weiterhin ist das Hexon mit seinem typenspezifischen Anteil auch für die Reaktion im Neutralisationstest (NT) verantwortlich und dient so gleichzeitig der Typisierung der einzelnen Spezies.

Die Fiberkomponente ist für die Hämagglutination (HA) und die Hämagglutinationshemmung (HAH) ausschlaggebend und dient so zur Untergruppenbildung der AV.
Lösliche Antigene sind überschüssige Produkte der Kapsidproteine. Sie sind Träger der Genus-, Untergruppen- und speziesspezifischen Determinanten.
Eine Übersicht über die bislang bekannten AV ist in Tabelle 1 enthalten. Aus ihr wird deutlich, wieviele definierte Spezies inzwischen bekannt sind. Dennoch existiert eine ganze Reihe von Viren, die noch nicht endgültig zugeordnet worden sind. Auch ist nicht sicher, wieviele neue Spezies in Zukunft noch gefunden werden; so ist die Tabelle als eine Übersicht über den momentanen Stand der AV-Forschung zu verstehen. Schon immer betrachtete man die AV als ausgesprochen wirtsspezifisch (Rolle und Mayr, 1966) und klassifizierte sie primär nach ihren Wirten und erst sekundär innerhalb der Wirtsgruppe in Spezies. Diese Wirtsspezifität ist aber nicht absolut, sondern wird in einigen Fällen durchbrochen. Sie werden an späterer Stelle noch zu nennen sein. Hauptsächlich sind es die aviären AV, die hiervon abweichen. Aber auch in der Gruppe der Mammalia sind Ausnahmen bekannt, wie canine, simiäre und humane AV zeigen. Dennoch sind die Speziesbestimmung und die Wirtsbeziehung die wichtigsten Merkmale in der Klassifizierung der AV. Somit ist die Bedeutung des NT zur Bestimmung der AV unbestritten und Methoden wie HA und HAH weit überlegen. Es ist das einzige Verfahren, das zur Zeit für die Typisierung bzw. die Definition einer Spezies Gültigkeit besitzt (Adair und McFerran, 1976).

Tabelle 1: Adenovirus-Spezies von Mensch und Tier

Genus	Wirt	Anzahl der Spezies		
		definiert	wahrscheinlich	vermutlich
Mast-	Mensch	33	2	-
adeno-	Affe	24	-	-
virus	Rind	9	1	-
	Schwein	4	-	1
	Schaf	5	-	2
	Pferd	1	-	-
	Hund	1	-	1
	Ziege	-	1	-
	Maus	1	-	1
	Hirschmaus	-	-	1
	Opossum	-	1	-
	Tupaia *	-	-	1
	Kaninchen	-	-	1
Avi-	Huhn	9	-	3
adeno-	Truthahn	2	-	-
virus	Gans	-	-	3
	Fasan	-	1	-
	Ente	-	-	1
	Frosch	-	1	-

* Es handelt sich hierbei um eine in Hinterindien lebende Eichhörnchenart.

2. SCHRIFTTUM

2.1. Animale Adenoviren und ihr Verhalten im Neutralisationstest (NT)

Gemeinsam ist allen Adenoviren ein im wesentlichen typischer CpE und spezifische Zellkernveränderungen (Schemp, 1971). Außer den AV der Vögel und einigen Spezies der bovinen AV-Gruppe haben alle AV, also auch die humanen AV ein genusspezifisches Antigen, das mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion (KBR) leicht nachgewiesen werden kann. Demgegenüber lassen sich die Adenoviren durch ihr typenspezifisches Antigen im NT in zahlreiche Spezies differenzieren. Die HAH ist hierbei unterlegen, schon deshalb, weil sie sich nur bei den hämagglutinierenden Typen anwenden läßt.
Bei den tierischen AV werden die Vögel besonders betrachtet, da deren Viren nicht über das gleiche genusspezifische Antigen verfügen wie die der Mammalia. Bei letzteren machen die bovinen AV 4-9 eine Ausnahme, da ihnen gleichfalls dieses gemeinsame komplementbindende Antigen fehlt. Dennoch werden sie mit den übrigen im Rahmen der BAV abgehandelt, weil in der Tiermedizin der Bezug des Virus zum Wirt überwiegt.

2.1.1. Bovine Adenoviren (BAV)

In der Gruppe der BAV sind neun definierte Spezies bekannt, deren Eigenschaften aus der nachfolgenden Tabelle 2 ersichtlich sind. Die BAV werden von Bartha (1969) in zwei Untergruppen eingeteilt. Die Untergruppe I mit den Spezies 1,2 und 3 ist mit den humanen Adenoviren (HAV) und den übrigen AV der Mammalia durch das gleiche genusspezifische Antigen gekennzeichnet. Untergruppe II mit den Spezies BAV 4-9 weist dagegen keine oder nur eine minimale Kreuz-

reaktion mit den genannten Adenoviren auf. Dagegen besitzen diese Typen eine untergruppenspezifische Antigendeterminante, die durch Kreuzreaktion zwischen ihnen nachweisbar ist (Bartha, 1969).
Die neun Prototypstämme sind im NT gegeneinander untersucht und als eigene Spezies anerkannt worden (Bartha et al., 1970; Adair und McFerran, 1976). Mohanty (1971) untersuchte 13 BAV-Stämme (für BAV 1-8 die Prototypstämme; ferner für BAV-6 zusätzlich die Stämme RG und KC-2; für BAV-9 nicht den Prototypstamm Sofia-4, dafür aber die Stämme KC-6 und BIL) im NT. Für den Stamm Nagano schlägt er die Bezeichnung BAV-10 vor, da er im Zweiweg-Kreuzneutralisationstest nicht mit den o. a. BAV- Spezies reagiert.
Bei der Beschreibung der Spezies BAV-4 und BAV-5 stellten Bartha und Aldasy (1966) eine beidseitige Kreuzneutralisation mit niedrigem Titer zwischen diesen Typen fest: BAV-5-AS (Titer 1:32) gegen BAV-4, BAV-4-AS (Titer 1:16) gegen BAV-5 bei einem homologen Titer von jeweils 1:256. Guenov et al. (1969) konnten o. a. Zweiweg-Kreuzneutralisationen des BAV-4 und 5 nur mit anderen Titern bestätigen: Titer 1:4 und 1:8 bei homologem Titer von 1:64 und 1:128.
Bartha et al. (1970) Stellten bei der Beschreibung des BAV-8 eine Zweiweg-Kreuzneutralisation mit BAV-5 und 6 (Titer 1:4 und 1:8) fest, eine Einweg-Kreuzneutralisation mit BAV-4 (Titer 1:8). Guenov et al. (1970) konnten bei der Neuvorstellung von BAV-9 (Stamm Sofia-4) als Spezies die Neutralisation BAV-8-AS (Titer 1:4) gegen BAV-5 bestätigen. Auch Adair und McFerran (1976) fanden zwischen BAV-3-AS gegen BAV-2 und BAV-8-AS gegen BAV-5 zwei positive Einweg-Neutralisationen mit hohen N-Titern (1:786 bzw. 1:1500).
Die Entdeckung der Spezies 3 (Stamm WBR-I) in England (Darbyshire et al., 1965) ergab bei der Identifizierung

keine Kreuzneutralisation mit den BAV-Spezies 1 und 2 sowie den HAV-1-28-AS.
In einer für diese Arbeit wichtigen Veröffentlichung (Adair und McFerran, 1976) werden neun BAV-, fünf OAV** und vier PAV*-Spezies gegeneinander im Zweiweg-NT sowie gegen die AS von 28 HAV getestet. Dabei kommen die Autoren zum Ergebnis, daß folgende BAV einseitig mit niedrigem Titer durch AS anderer Viren neutralisiert werden:
BAV-2 gegen BAV-3-AS (Titer 1:768; homol. Titer 1:12288)
BAV-2 gegen OAV-2-AS (Titer 1:36; homol. Titer 1:36874)
BAV-2 gegen OAV-3-AS (Titer 1:768; homol. Titer 1:36874)
BAV-5 gegen BAV-8-AS (Titer 1:1500; homol. Titer 1:12288)
Die übrigen BAV wurden durch die bekannten HAV-AS (AS der HAV-Spezies 4, 13, 14 und 32 wurden nicht getestet) nicht neutralisiert. Aufgrund dieser und anderer Kriterien wie Zellwachstum etc. wird von den Autoren eine gewisse Verwandtschaft zwischen den BAV und OAV postuliert.
Bei den Erstbeschreibungen anderer BAV sind serologische Untersuchungen wie KBR, aber kein NT vorgenommen worden, so bei dem BAV-6 (Rondhuis, 1968) oder beim BAV-4 und 7 in England (Phillip und Sands, 1972). Erst in späteren Arbeiten sind Neutralisationstests zur Abgrenzung dieser Spezies vorgenommen worden (Adair und McFerran, 1976).

Das BAV-1 (Stamm Nr. 10), das als erstes Adenovirus beim Rind isoliert und identifiziert wurde (Klein et al., 1959), zeigte eine Verwandtschaft zu den HAV, da es noch durch hochverdünntes menschliches Gammaglobulin neutralisiert wurde. Eine weitere Untersuchung in der gleichen Arbeit dokumentierte, daß diese neutralisierenden Antikörper zwar bei 38% der Erwachsenen, aber nicht bei Kindern nachzuweisen waren.
Eine entsprechende Untersuchung (Klein et al., 1960) wurde am BAV-2 (Stamm Bovine Nr. 19) durchgeführt, das keine Kreuzneutralisation mit BAV-1 (Stamm Nr 1o) zeigte, aber bei 18% der Erwachsenen-und 0% der Kinderseren eine

---

**OAV = ovine Adenoviren *PAV = porcine Adenoviren

Tabelle 2: Bovine Adenoviren

Spezies	Prototypstamm	Ort der Isolierung	Genusspez. Antigen	Untergruppe
BAV-1	B-10	USA	+	I
BAV-2	B-19	USA	+	I
BAV-3	WBR-1	England	+	I
BAV-4	THT/62	Ungarn	-	II
BAV-5	B4/65	Ungarn	-	II
BAV-6	671130	Niederl.	-	II
BAV-7	Fukuroi	Japan	-	II
BAV-8	Misk/67	Ungarn	-	II
BAV-9	Sofia-4	Bulgarien	-	II

Tabelle 3: Ovine Adenoviren

Spezies	Prototypstamm	Ort der Isolierung	Aufgetretene Neutralisation
OAV-1	S-1	Nordirland	-
OAV-2	PX-515	"	OAV-4§
OAV-3	PX-611	"	OAV-2 und BAV-3§§
OAV-4	7769	Schottland	OAV-4§
OAV-5	SAV	Türkei	-

§Sharp et al., 1974

§§Adair und McFerran, 1976

Neutralisation ergab. In allen Seren von Rindern waren Antikörper in hohen Titern nachzuweisen.
In einer weiteren Arbeit von Klein (1962) wurde festgestellt, daß die HAV-AS-Spezies 1-8 BAV-1 und 2 nicht neutralisieren. Klein zog damals daraus den Schluß, daß es noch weitere bisher unbekannte Adenoviren beim Menschen geben muß, die durch Gammaglobulin Erwachsener neutralisiert werden.
Von Mayr et al. (1970) wurde aus dem Schulterlymphknoten einer an Leukose erkrankten Kuh ein BAV Typ 6 (Stamm 1116) isoliert. Die Identifizierung dieses Stammes gelang mit AS des von Rondhuis isolierten BAV-6 (Angaben über das Virus s. Rondhuis, 1968). Im Neutralisationstest war das Virus nicht neutralisierbar durch AS gegen HAV 1-31 (HAV 23 und 25 wurden nicht getestet); SAV-1*, 11, 15, 17, 33, 34, 36; FAV-1**; CAV-1*** und 2; PAV 1-4 und BAV 1-5.
In der Arbeit von Afshar (1969), die die Verbreitung der BAV im Iran dokumentiert, wurde ihr Nachweis mittels der Agar-Gel-Präzipitation geführt. So können in der Rinderpopulation ca. 25% der Seren als positiv ermittelt werden. Die Seren der übrigen Tiergruppen wie Pferd, Ziege, Hund und andere wurden ebenfalls gegen BAV getestet. Dabei wurden annähernd gleich viele positive Reaktionen verzeichnet. Damit ist aber nicht die Verbreitung der BAV innerhalb des Tierreichs im Iran charakterisiert, sondern lediglich das Vorkommen von genusspezifischen AK gegen AV dargestellt, was auch von Studdert et al. (1974) vermerkt wird. Immerhin zeigt die Arbeit von Afshar, wie weitverbreitet die AV sind.

2.1.2. Ovine Adenoviren (OAV)

Bislang sind fünf Spezies der OAV bekannt, die alle im NT gegeneinander abgegrenzt wurden. Eindeutige Kreuzneutra-

---

*SAV = simiäre Adenoviren **FAV = Adenoviren des Huhnes
***CAV = canine Adenoviren

lisationen der Spezies untereinander sind nicht bekannt.

Der Nachweis von genusspezifischen AK gegen Adenoviren in Seren von Schafen wurde von Darbyshire et al. (1965) erbracht. Die erste OAV-Isolierung (Spezies 1 und 2) erfolgte durch McFerran et al. (1969). Auch OAV-3 wird zuerst durch McFerran et al. (1971) veröffentlicht. Den NT verwendet er zur Abgrenzung der 3 OAV-Spezies untereinander.

Auch die OAV-Spezies 4 (Bauer et al., 1975) wurde nur mit den drei bekannten OAV im NT getestet; ein Mischantiserum gegen HAV wurde lediglich in der KBR zum Nachweis des genusspezifischen Antigens verwendet.

Bei der Untersuchung der fünf OAV-Spezies von Adair und McFerran (1976) gegen 28 HAV-AS (Serotyp 4, 13, 14, 32 wurden nicht getestet) wurden keine Neutralisationen festgestellt. Dagegen neutralisierte BAV-3-AS (homol. Titer 1:12288) OAV-3 mit einem Titer von 1:96, nicht aber die übrigen BAV und PAV.

Weitere Angaben über die fünf Spezies sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

2.1.3. Porcine Adenoviren (PAV)

Erst 1964 wurde die Isolierung eines Adenovirus beim Schwein veröffentlicht (Haig et al., 1964); beschrieben wurden die PAV 1-3. Von Bibrack (1965) wurden sechs Virusstämme untersucht, isoliert von klinisch gesunden Schweinen, als Adenoviren identifiziert und alle als zur Spezies 4 zugehörig erkannt.

Während in der bayerischen Schweinepopulation ausschließlich die Spezies 4 gefunden wurde, ist es interessant festzustellen, daß zur gleichen Zeit in Berlin drei PAV-Stämme (Blu 192, Blu 2o1 und S(B) 483) identifiziert wurden, die der Spezies 1 angehören (Tischer und Köhler, 1967; Tischer et al., 1968), während Spezies 4 in Berlin nicht

gefunden wurde. Die Typisierung wurde nur mit der KBR und dem HAH-Test vorgenommen.
Daraus ist eine regional unterschiedliche Verteilung der PAV-Spezies in Deutschland zu erkennen, denn die PAV 1-3 konnten in der bayerischen Schweinepopulation nicht nachgewiesen werden.
PAV-5 wurde von Darbyshire et al. (1975) isoliert und gegen die bekannten vier Spezies im NT abgegrenzt. Somit sind alle fünf bekannten PAV-Spezies im NT voneinander zu trennen. Sie weisen keine Kreuzneutralisation auf.
Die Arbeit von Clarke et al. (1967) beschäftigt sich mit den PAV-Spezies 1-3. Ihre Untersuchung gegen die AS der HAV 1-31 (Prototypstämme) zeigte keine Neutralisation.

Ausführliche NTs mit PAV-4 (Stamm 17 und Ohio F 618) wurden von Bibrack (1969) veröffentlicht. Gegen die bekannten HAV-1-31-AS war keine Neutralisation feststellbar. Auch der NT dieser Virusstämme gegen viele der damals bekannten tierischen AV-AS verlief negativ.
Adair und McFerran (1976) untersuchten vier PAV-Spezies und konnten im Einweg-Kreuzneutralisationstest mit den bekannten HAV-AS (Spezies 4, 13, 14, 32 wurden nicht getestet) keine Neutralisationen bemerken.
Damit sind bei der Gruppe der PAV alle bekannten Serotypen gegen die HAV-AS getestet, während uns von einem Test in der anderen Richtung keine Literaturangaben bekannt sind.

2.1.4. Murine Adenoviren (MAV)

Auf dem Gebiet der MAV-Forschung gilt heute die Existenz einer Spezies als gesichert, während ein zweiter Stamm K87, in Japan isoliert, vermutlich bald als MAV-2 anerkannt wird. Die erste Veröffentlichung des MAV-1 durch Hartley und Rowe (1960) stellte seine Verwandtschaft zur Gruppe der HAV mittels der KBR fest. Neutralisationen von HAV-1 und fünf in Meerschweinchen hergestellten MAV-1-AS ver-

Tabelle 4: Porcine Adenoviren

Spezies	Prototypstamm	Ort der Isolierung	Aufgetretene Neutralisationen
PAV-1	25/R	England	keine
PAV-2	A47	"	"
PAV-3	6618	"	"
PAV-4	F618	USA	"
PAV-5	100	England	"

Tabelle 5: Murine Adenoviren

Spezies	Stamm	Ort der Isolierung	Kreuzneutralisation
MAV-1	FL	USA	wiedersprüchliche
	K87	Japan	Befunde

Tabelle 6: Untergruppen simiärer Adenoviren

Untergruppe	Spezies	HA der Blutzellen von	Onkogenität
I	SAV-13	Affe	keine
II	SAV-3,4,6, 9,10,14	Affe, Ratte, Meerschweinchen	SAV-14
III	SAV-1,2,5, 7,8,11,12,15	Ratte (unvollständig)	alle
IV	SAV-16	keine	ja

liefen negativ (Titer weniger 1:10).
Eine weitere Arbeit, die sich in der Gruppe der MAV mit dem NT beschäftigt ist die Erstbeschreibung des Stammes K87 durch Hashimoto et al. (1967). Sie beschränkt sich auf Kreuzneutralisationen zwischen MAV-1 und Stamm K87 mit negativem Ergebnis, bestätigt durch van der Veen und Mes (1974).
Die Untersuchung von Wigand et al. (1977) ergab dagegen eine Zweiweg-Kreuzneutralisation zwischen MAV-1-AS gegen Stamm K87 (Titer 1:20; homol. Titer 1:2560) und K87-AS gegen MAV-1 (Titer 1:80; homol. Titer 1:80). Die HAV 1-33-AS zeigten keine Neutralisation ebensowenig wie die HAV-1-33 vom MAV-1-AS neutralisiert wurden (Titer weniger als 1:5).
Aus dem Blut von adulten Wildmäusen (Peromyscus maniculatus bairdii) wurde ein Adenovirusstamm E 20308 isoliert (Reeves et al., 1967). Es handelt sich vermutlich um eine eigene Spezies (s. Tabelle 1), da im NT keine Kreuzreaktion mit HAV-1-30-AS, MAV-1 und Stamm K87 gefunden wurde.

2.1.5. Simiäre Adenoviren (SAV)

Die AV sind neben den Enteroviren eine Hauptgruppe simiärer Viren. Nach alter Klassifikation von Hull (1968), beruhend auf ihrem CpE in Affenzellkulturen, werden sie als einzige in die Gruppe I gerechnet. Die neueste Einteilung innerhalb der SAV lehnt sich an die HAV-Untergruppen an und ist Tabelle 6 zu entnehmen. Sie enthält die Onkogenität der einzelnen Spezies,ebenso ihr HA-Verhalten gegen Tiererythrozyten.
Nach der heute geltenden Nomenklatur (Kalter, 1977) existieren 24 Spezies (s. Tabelle 7). Die inzwischen entdeckten Stämme Pan 9, 10 und 11 sind noch nicht als eigene Spezies anerkannt worden.

Zwischen den SAV untereinander sind keine gesicherten Kreuzneutralisationen bekannt.
Interessant ist eine frühere Arbeit von Rowe et al. (1958) in der ein NT zwischen HAV-1-6, 7a und 8-18 gegen SAV-1, 3, 6, 10 und 21 vorgenommen wurde. Dabei konnten folgende, heterologe Neutralisationen zwischen SAV und HAV nachgewiesen werden:
HAV-14-AS gegen SAV-21 (Titer 1:10)
HAV-16-AS gegen SAV-21 (Titer 1:10)
SAV-21-AS gegen HAV-14 (Titer 1:20)
SAV-10-AS gegen HAV-6 (Titer 1:20)
SAV-10-AS gegen HAV-8 (Titer 1:5).
Von den Autoren wird nur der Zweiweg-Kreuzneutralisation zwischen SAV-21 und dem HAV-14 eine Bedeutung beigemessen.
In einer älteren Arbeit berichten Hull et al. (1958), daß keines der damals bekannten SAV mit den HAV im NT reagiert. In dieser Arbeit sind keine Angaben über Virus und AS gemacht, sodaß unbekannt bleibt, ob die Untersuchungen in beiden Richtungen und mit welchen Spezies durchgeführt wurden.
Es gibt keine Anhaltspunkte für eine serologische Beziehung zwischen einem SAV und einem HAV; so lauten die Feststellungen von Hull (1968; 1969) in Übersichtsarbeiten über simiäre Viren, in der über Studien mittels NT mit spezifischen AS berichtet wird. In der Veröffentlichung sind keine genauen Angaben über diese Tierseren gemacht.

Das von Kim et al. (1967) isolierte SAV-20 zeigte mit den damals bekannten HAV-AS keine Neutralisation.

Ebenso negativ verlief die Untersuchung des SAV-16 gegen die damals bekannten HAV-AS (Eugster et al., 1969).

Auch in der Erstbeschreibung der SAV-22, 23 und 24 und Stamm Pan9 durch Basnight et al. (1971) wird für diese Spezies keine Neutralisation durch die HAV-1-33-AS sowie durch AS anderer SAV bei einer Verdünnung von 1:10 festgestellt. Auch bei der Erstbeschreibung des SAV-Stammes

Tabelle 7: Simiäre Adenoviren

Spezies	Ehemalige Bezeichnung	Prototypstamm
1	SV1 (M1)	301
2	SV11 (M5)	8045-2WN
3	SV15 (M4)	AP4398
4	SV17 (M6)	6630-IC
5	SV20 (M7)	P4
6	SV23 (M2)	74932WK
7	SV25 (M8)	646776
8	SV30	P5
9	SV31	P6
10	SV32 (M3)	P7
11	SV33 (M10)	P10
12	SV34	A7644
13	SV36 (M11)	P9
14	SV37	E4382
15	SV38	702707
16	SA7	C-8
17	SA17	B1o5
18	SA18	C626
19	AA153	AA153
20	V340	V340
21	C-1	Bertha
22	Pan5	CV-23
23	Pan6	CV-32
24	Pan7	CV-33

Die Stämme Pan 9, Pan 10 und Pan 11 sind noch nicht als eigene Spezies anerkannt worden. SV27 (M9) und SV39 sind wegen ihrer engen Verwandtschaft zu den Spezies SAV-9 und SAV-6 nicht mehr als eigene Spezies aufgeführt.

Pan 11 durch Asher et al. (1978) wurden zur Identifizierung umfangreiche NTs vorgenommen. Dabei wurden keine Neutralisationen durch die untersuchten 33 HAV-AS sowie die bekannten SAV-AS hervorgerufen. Alle Titer lagen unter 1:10 (homol. Titer um 1:320). Weiterhin wird in dieser Arbeit von Stamm Pan 10 berichtet, ein in Bethesda (USA) isoliertes SAV, das noch nicht publiziert war.
Eine frühere Veröffentlichung von Hull et al. (1956) berichtet über die positive Neutralisation von humanem Gammaglobulin mit SAV-2.
Auch von Aulisio et al. (1964) wurde das Vorkommen von AK beim Menschen gegen das SAV-5 nachgewiesen, wobei ein häufiges Auftreten in Neuguinea, ein selteneres in Amerika festgestellt wurde.
Von Kim et al. (1967) werden beim Menschen neutralisierende AK auch gegen SAV-3 und 20 festgestellt, wobei ein hoher Prozentsatz der untersuchten Seren diese AK aufwies.
Hull (1969) berichtet über das Vorkommen von spezifischen AK bei Menschen, die nachweisbar keinen Kontakt mit Affen hatten. Menschliches Gammaglobulin neutralisiert danach SAV-1, 5 und 7, nicht dagegen SAV 2-4, 6 und Stamm SV27 (er wurde inzwischen als eigene Spezies wegen seiner Verwandtschaft mit SAV-6 gestrichen).
Kalter und Heberling (1971) stellten in humanen Seren durch den NT AK gegen SAV-3, 6, 16 (in hohem Prozentsatz) und SAV-20, nicht aber gegen SAV-1 fest und bestätigten teilweise die Ergebnisse o. a. Autoren. Umgekehrt wurden bei Schimpansen sowie anderen verschiedenen Affenspezies neben verschiedenen SAV-AK auch AK gegen das HAV-12 im NT nachgewiesen. SAV-1 betreffend hatte Hull (1969) in 10 von 80 untersuchten humanen Seren niedrige neutralisierende AK-Titer (1:2 bis 1:20) festgestellt.
Von Asher et al. (1978) wurde über Infektionen des Menschen mit SAV-Stamm Pan 11 berichtet. Sie wurden durch den Titeranstieg an spezifisch neutralisierenden Antikörpern nachgewiesen.

2.1.6. Lapine Adenoviren (LAV)

Bei den LAV vermutet man die Existenz einer Spezies. Das Virus wurde von Bodon in Ungarn isoliert. Eine Veröffentlichung existiert momentan noch nicht. Da Kaninchen im Labor als Versuchstiere eingesetzt werden, könnte das LAV von daher Bedeutung erlangen.

2.1.7. Canine Adenoviren (CAV)

Die erste Virusisolierung in der Gruppe der CAV geschah durch Kapsenberg (1959). Heute gilt die Existenz des CAV-1 (HCC-Virus) als gesichert, während ein zweiter Stamm (Toronto A26/61) noch nicht als eigene Spezies angesprochen werden kann, weil Kreuzneutralisationen zwischen beiden Stämmen bestehen.
Besonders klinisch interessant ist das CAV-1 aus zweierlei Gründen. Einmal gehört es zu den wenigen animalen AV, die bei natürlicher Infektion schwerste klinische Veränderungen hervorrufen können. Weiterhin ist es ein Virus, das bei einer zweiten Tierspezies, dem Fuchs, durch natürliche Infektion ein ganz anderes Krankheitsbild,nämlich eine Encephalitis verursacht (Siedentopf und Carlson, 1949). Hier wird in einem der ganz wenigen Fälle die Wirtsspezifität der AV durchbrochen. Interessant ist die Aussage in der Veröffentlichung von Kapsenberg (1959) für die keine Literaturangabe existiert: "Dr. van der Veen informed us, that the prototype virus strains of HAV type 1-17 could not be neutralized by our guinea pig antiserum to the Utrecht strain of HCC-virus at the serum dilution of 1:4."

Wichtig ist die Untersuchung von Smith et al. (1970), die eine Einweg-Kreuzneutralisation zwischen HAV-8-AS und CAV-1 (Titer 1:20) feststellten. Eine Neutralisation in der anderen Richtung dagegen wurde nicht bemerkt (Titer weniger als 1:10). Alle NT gegen die übrigen bekannten 30

HAV-AS verliefen negativ. Wichtig ist der Hinweis, daß die Neutralisation HAV-8-AS gegen CAV-1 mit zwei Seren vorgenommen wurde, die in unterschiedlichen Instituten hergestellt wurden. Ob diese Neutralisation durch Austestung von Präseren erhärtet wurde,geht aus der Arbeit nicht hervor.
Weiter ist ein negativ verlaufender NT zwischen CAV-1 und HAV-2 und HAV-4 bekannt (Carmichael et al., 1961),der in beiden Richtungen negativ verlief.
Vom Stamm Toronto A 26/61, dem Miterreger des "Cannel cought", ist in der Literatur kein NT mit AV anderer Spezies bekannt. Beide CAV-Spezies wurden von Swango et al. (1970) mittels NT auf ihre gegenseitige serologische Spezifität untersucht und als nicht identisch erkannt.
Der Verdacht,die menschliche Hepatitis stehe in einem ursächlichen Zusammenhang mit dem Hepatitiserreger des Hundes, ließ sich nicht erhärten. Eine Neutralisation zwischen CAV-1-AS und Seren von Hepatitispatienten konnte in keinem Erkrankungsstadium nachgewiesen werden (Bech, 1959).

2.1.8. Equine Adenoviren (EAV)

Bislang gilt bei den EAV nur die Existenz einer Spezies (EAV-1) als gesichert. In einer neuen Arbeit (Studdert et al., 1974) werden sieben EAV-Stämme, d.h. alle bisher bekannten, im MNT untersucht. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß alle Stämme untereinander verwandt sind.
Die Aussage, ob alle zum EAV-1 zusammengefaßt werden können, wird ebensowenig getroffen wie eine serologische Untersuchung über die Beziehung zu anderen tierischen oder menschlichen AV. Vielmehr stehen in allen Arbeiten die klinischen Veränderungen sowie die Häufigkeitsverteilung in Tierpopulationen im Vordergrund.
Letztere betreffend werden ganz unterschiedliche Zahlen genannt. Während Afshar (1969) bei 10,9% der untersuch-

ten Pferde präzipitierende Antikörper entdeckte,fanden Studdert et al. (1974) 73,1% der Seren positiv. Harden et al. (1972) berichten von zwei Spezies, doch sehen die Autoren deren Existenz noch nicht als gesichert an. Somit ist auf dem Gebiet der EAV trotz einiger Veröffentlichungen gerade im Bereich der Serologie noch manche Frage unbeantwortet.

2.1.9. Adenoviren anderer Tiere

Nur der Vollständigkeit halber sei hier erwähnt, daß auch beim Opossum, Tupaia und beim Frosch AV isoliert wurden. Es handelt sich um Einzelarbeiten; es fehlt noch die Bestätigung als eigene, definierte Spezies.
Interessant scheint uns die Tatsache, daß in der uns bekannten Literatur keine Untersuchung von Katzen oder Katzenzellkulturen auf das Vorkommen von AV existiert.

2.2. Aviäre Adenoviren

Die aviären AV unterscheiden sich von den bisher besprochenen Spezies dadurch, daß ihnen das gemeinsame komplementbindende Antigen der Säugetiere fehlt. Stattdessen haben sie ein eigenes genusspezifisches Antigen. Über hämagglutinierende Eigenschaften verfügen sie meist nicht. Dennoch gehören sie wegen der sonst charakeristischen Merkmale zu der Gruppe der AV.
Während früher die aviären AV insgesamt als eine Gruppe zusammengefaßt wurden, wird in einer Übersichtsarbeit jüngeren Datums für sie eine Unterteilung nach ihren Wirtstieren gefordert (McFerran et al., 1977). Für die neun definierten Spezies des Huhnes wird analog zu den AV der Säugtiere die Bezeichnung "Fowl Adenovirus" (FAV) vorgeschlagen; analog dazu für die der Gans die Bezeichnung "Goose Adenovirus" (GAV) und für die der Pute "Turkey

Adenovirus" (TAV). Somit unterteilen wir auch bei den Vögeln die AV nach ihrer Wirtsspezifität, doch sind Isolierungen einer Spezies von verschiedenen Vogelarten gelungen. So kommt die FAV-1 Infektion außer bei Hühnern auch bei Wachteln als Quail Bronchitis(Yates und Fry, 1957; Olson, 1950) bei Schnepfen, Fasanen, Enten und Gänsen vor (Ahmed, 1971). Außerdem kann eine Spezies für verschiedene, klinisch manifeste Krankheiten die Ursache sein.
Wie schon unter 2.1. angesprochen, liegen nicht alle der aviären AV-Stämme als definierte, mittels NT abgegrenzte Spezies vor. So wird von führenden Wissenschaftlern die Abschaffung des Begriffes Celo-Virus gefordert, da er durch unkorrekte Verwendung zu Verwirrung in der Nomenklatur führt (McFerran et al., 1975).

2.2.1. Adenoviren des Huhnes (Fowl Adenoviren - FAV)

Eine einheitliche Nomenklatur existiert zur Zeit noch nicht für die FAV. Nur FAV-1 ist allgemein anerkannt; deshalb werden von uns vorwiegend die Stammbezeichnungen verwendet. Beim FAV-1 ist Ote der allgemein anerkannte Prototypstamm.
Die erste Isolierung eines FAV erfolgte durch Yates und Fry (1957). Ihr folgte zwei Jahre später die Entdeckung des FAV-2 (GAL-Virus) durch Burmester et al. (1960).

Eine Untersuchung von über 100 Virusstämmen in Japan durch Kawamura et al. (1964) erbrachte neben der Bestätigung der FAV-1 und GAL noch weitere sechs Spezies.
Im NT zeigte sich eine Zweiweg-Kreuzneutralisation zwischen:
SR-48-AS gegen SR-49 (N-Index 4,3; homol. N-Index über 7,4)
SR-49-AS gegen SR-48 (" 3,8; " " " 7,4).
Einfache Neutralisationen zeigten sich zwischen folgenden Paaren:
YR-36-AS gegen CR-119 (N-Index 1,4; homol. N-Index über 6,7)

TR-59-AS gegen CR-119 (N-Index 2,0; homol. N-Index über 7,3)
SR-48-AS gegen YR-36 (" 2,1; " " " 7,4)
SR-48-AS gegen TR-22 (" 1,3)
Auch McFerran et al. (1972), die für den Stamm 764 die Einstufung als eine eigene Spezies vorschlagen, führten NTs nur innerhalb der Gruppe der FAV durch und konnten eine Bestätigung der o. a. Spezies erbringen.
Für uns interessant ist die Arbeit von Grimes und King (1977), die einen NT im Mikroverfahren durchgeführt und zur Berechnung der N-Titer die Werte von drei Durchgängen benutzt haben. Hierbei stellten sie folgende Neutralisationen fest:
CR-119-AS gegen Y-36
YR-36-AS gegen CR-119
SR-49-AS gegen 685
YR-36-AS gegen 764
Alle heterologen Titer sind sehr niedrig und liegen weit unter den homologen Titerwerten.
Interessant ist die Feststellung mehrerer Autoren, daß bei den FAV mehrere Spezies in einem Bestand vorkommen können (Khanna, 1964; Yates et al., 1976), teilweise sogar von einem Tier isoliert werden konnten.

2.2.2. Adenoviren der Pute (Turkey Adenoviren - TAV)

Die ersten Virusisolierungen geschahen Anfang der 70er Jahre (Scott und McFerran, 1972). Sie ließen sich gut gegen die übrigen bekannten aviären AV abgrenzen. So zeigte TAV-1 mit verschiedenen FAV-AS keine Neutralisation. Auch der CpE ist auf Wirtszellkulturen beschränkt. Kreuzneutralisationen mit AV anderer Wirtsspezies wurden nicht vorgenommen. Ahmed (1971) behauptet, von Puten auch Celo-Virus isoliert zu haben, wobei der Autor eine Mitbeteiligung des Virus bei respiratorischen Erkrankungen durch Mykoplasmen nicht ausschließt. McFerran et al. (1975)

bezweifeln bei letzterer Veröffentlichung aber zu Recht, daß es sich um das FAV-1 handelt, da kein NT, vielmehr nur ein Agar-Gel-Präzipitationstest durchgeführt wurde. Eher wird es sich um ein nicht identifiziertes TAV handeln.

2.2.3. Adenoviren der Gans (Goose Adenoviren - GAV)

Die erste Isolierung eines AV dieser Tierspezies gelang 1967 aus dem Kot von Gänsen (Csontos, 1967). Eine Verwandtschaft zu den FAV (in Ungarn isolierte Stämme) konnte nicht festgestellt werden (Khanna, 1966).
Eine zweite Virusisolierung wird von Kaleta (1969) gemeldet, doch ist zwischen beiden Stämmen noch keine Überprüfung auf ihre Verwandtschaft vorgenommen worden. Beide Isolierungen können also noch nicht als eigene Spezies angesehen werden.

2.3. Humane Adenoviren (HAV)

1953 wurde das erste HAV, das erste AV überhaupt isoliert. Vom CAV-1 kannte man zwar zu dieser Zeit schon die klinischen Bilder, wußte auch um den viralen Ursprung, hatte aber das Agens noch nicht isoliert.
Die Erforschung der AV, ihre chemischen, serologischen und klinischen Eigenschaften, vollzogen sich zur Hauptsache innerhalb von ca. 15 Jahren. So wurde von Rosen et al. schon 1961 die Erstbeschreibung der HAV-25, 26, 27 und 28 veröffentlicht. Inzwischen sind 35 HAV-Typen bekannt und bis auf zwei als eigene Spezies anerkannt worden.
Die Adenoviren des Menschen teilt man heute in fünf Untergruppen ein, von denen drei ursprünglich nach ihrem Hämagglutinationsverhalten gegliedert wurden (Rosen, 1960). Die Viren innerhalb der Untergruppen zeigen darüberhinaus in vielen anderen biologischen und serologischen Eigenschaften Ähnlichkeiten und Beziehungen und sind zudem

auch biochemisch sowohl im Aufbau ihrer DNS wie in ihrer Polypeptidstruktur untereinander eng verwandt (Philipson et al., 1975). Weitere Angaben über die HAV sind aus Tabelle 7 zu entnehmen.
In der Gruppe der HAV ist eine fast unübersehbare Zahl von Veröffentlichungen erschienen. NTs mit tierischen AV-AS bei HAV-Erstbeschreibungen sind uns aus der Literatur nicht bekannt. Vielmehr wurden Neuisolierungen jeweils nur gegen die bekannten HAV im NT getestet.

Tabelle 8: Untergruppen humaner Adenoviren

Untergruppen	Spezies	HA der Blutzellen von	CpE
I	3,7,11, 14,16,21, 34,35	Affe	Retraktion
II	8-10,13, 15,17,19, 20,22-30, 32,33	Ratte vollständig (außer 20,25, 28)	Rundzellen (außer 8)
III	1,2,5,6	Ratte unvollständig	Retraktion
IV	12,18,31	Ratte unvollständig (außer 18)	unterschiedlich
V	4	Ratte unvollständig	Rundzellen

Untergruppen	Klin. Bedeut.	G+C-Anteil d. DNS	Onkogenität
I	akute Inf. Epidemien	mittel	mäßig
II	fraglich HAV-8: epidemische Keratokonjunktivitis	hoch	nur nach in vitro Transformationen
III	oft latent	hoch	-"-
IV	fraglich	niedrig	stark
V	akute Inf.	mittel	keine

3. FRAGESTELLUNG

Aus dem Studium der Literatur ergibt sich, daß in den einzelnen Wirtsgruppen die AV zum großen Teil sehr gut gegeneinander im NT untersucht worden sind. Bei der Entdeckung und Isolierung von tierischen AV sind außerdem oft die bekannten HAV-AS im NT zur Überprüfung der Spezieseigenständigkeit mitgetestet worden.
Adair und McFerran (1976) waren die Ersten, die drei AV-Gruppen, nämlich die BAV, OAV und PAV gegeneinander im NT untersuchten.
Bei der Entdeckung und Isolierung der HAV wurde, soweit uns bekannt, nie eine Prüfung der gefundenen Spezies durch Kontrollieren ihres Neutralisationsverhaltens gegen tierische AV-AS vorgenommen. So wird in der Literatur immer nur die Einweg-Kreuzneutralisation der tierischen AV gegen die HAV-AS beschrieben. In drei Arbeiten wurden Neutralisationsversuche auch in der anderen Richtung angegeben (Rowe et al., 1958; Smith et al., 1970; Wigand et al., 1977). Es handelt sich bei den beiden erstgenannten Veröffentlichungen um Untersuchungen tierischer AV, die im Einweg-Kreuzneutralisationstest mit HAV-AS positive Ergebnisse zeigten und deshalb auch in der anderen Richtung untersucht wurden.
Somit bleibt anzumerken, daß in der AV-Forschung eine Lücke entstanden ist, betreffend das Verhalten der HAV gegenüber den tierischen AV-AS und der unterschiedlichen tierischen AV im NT.
Aufgabe dieser Arbeit ist es, zu versuchen, die Lücke zwischen den einzelnen Wirtsspezies teilweise zu schließen, insbesondere festzustellen, wieweit sich im NT Einweg-Kreuzreaktionen zwischen tierischen AV-AS und HAV-1-35 nachweisen lassen.

4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

4.1. Material und Methoden

4.1.1. Virusmaterial

Verwendet wurden die Prototypen 1-35 der HAV, sowie ein serologisch vom Prototyp abweichender Wildstamm des HAV-16 (Wigand 1975) als Zellkulturmaterial. Weitere Angaben sind aus Tabelle 9 zu ersehen.
Das Virusmaterial wurde auf HeLa-Zellen verimpft, nach Erreichen eines vollständigen CpE geerntet, 24 Stunden bei -25°C eingefroren und schließlich durch Zentrifugation gewonnen. Der Überstand diente als Stammlösung.
Zur Herstellung der Arbeitsverdünnung wurde dem Virusmaterial Eagle's MEM mit 5% Kälberserum zugesetzt. Für jeden dritten Versuch wurden sie jeweils neu angesetzt, um einen Titerabfall durch häufiges Auftauen zu vermeiden.

4.1.2. Homologe Seren

Zur Identifizierung der 36 o.a. Serotypen wurden homologe Kaninchenseren aus den Vorräten des Adenovirus-Referenzzentrums in Homburg/Saar verwendet.
Hierzu war serumfreies Virusmaterial Kaninchen intravenös in vierwöchigem Abstand injiziert worden. 14 Tage nach der 2. Injektion wurde das Serum der Tiere gewonnen.
Alle homologen Seren wurden in der Verdünnung 1:10 verwendet. Weitere Angaben sind aus Tabelle 10 zu ersehen.
Die mit + gekennzeichneten N-Titer bedeuten, daß die Neutralisation noch über die Serumverdünnungsreihe hinausging.

Die N-Titerbestimmung (Mikroplatte) wurde in zwei Serumtitrationen (jeweils Doppelreihen mit je acht Mikroröhrchen und Verdünnung in Zweierschritten) nach der Endverdünnungsmethode vorgenommen (Tyrrell und Horsfall,

Tabelle 9: Virusmaterial (humane Adenoviren)

Spezies	Prototyp	Untergruppen	Herst.- Datum	Arbeitsverd.
1	Ad 71	III	02.06.76	1:80
2	Ad 6	III	30.11.70	1:40
3	GB	I	26.10.77	1:5
4	RI-67	V	18.11.77	1:10
5	Ad 75	III	23.06.76	1:80
6	Ton 99	III	27.11.70	1:100
7	S-1058	I	12.11.75	1:50
8	Paulus	II	25.04.77	1:5
9	Hicks	II	21.10.69	1:50
10	J.J.	II	07.11.69	1:50
11	Slobitski	I	04.12.74	1:20
12	Huie	IV	30.03.77	1:50
13	A.A.	II	23.11.68	1:40
14	de Wit	I	27.11.74	1:10
15	CH 38	II	13.09.76	1:100
16	CH 79	I	26.01.78	1:20
16w	J 30494	I	13.11.77	1:50
17	CH 22	II	09.11.68	1:10
18	D.C.	IV	23.05.74	1:20
19	587	II	o5.10.72	1:10
20	931	II	09.02.69	1:8
21	1645	I	30.11.70	1:20
22	2711	II	08.11.69	1:5
23	2732	II	29.06.70	1:20
24	3153	II	03.03.70	1:5
25	BP-1	II	15.10.70	unverd.
26	BP-2	II	30.05.64	"
27	BP-4	II	09.03.70	1:10
28	BP-5	II	02.08.69	1:2
29	BP-6	II	28.06.69	1:5
30	BP-7	II	14.09.67	1:20
31	VRL 15/62	IV	24.04.74	1:4
32	H.H.	II	01.07.77	1:2
33	D.J.	II	29.06.70	1:3
34	Compton	I	06.11.76	1:8
35	Holden	I	05.11.76	1:15

1953). Der Endpunkt der Neutralisation wurde bei einem CpE von 25% angenommen, mit einem CpE der Viruskontrolle von 100%. Aus den vier erhaltenen Werten wurde der N-Titer gemittelt. Die Streubreite zwischen den beiden Versuchen betrug bis auf zwei Spezies (HAV-15-AS, HAV-33-AS) nicht mehr als höchstens zwei Verdünnungsschritte. Zum Vergleich sind die N-Titer aus dem konventionellen Röhrchentest ebenfalls in Tabelle 10 aufgeführt.
In mehreren Fällen waren die zunächst verwendeten Kaninchenimmunseren im Mikrotest für HeLa-Zellen toxisch, sodaß die Neutralisationstests nicht auswertbar waren. Diese Seren wurden durch andere nicht cytotoxische Seren des gleichen Typs ersetzt.

4.1.3. Medium

Virusverdünnungen und Zellaufschwemmungen wurden in allen Versuchen in Eagle's MEM mit 5% Kälberserum (Eagle 5%) vorgenommen. Für die Serumverdünnung sowohl der homologen Seren wie der Tier-Adeno-Testseren wurde PBS (phosphate buffered saline) nach Nairn in folgender Zusammensetzung verwendet:
NaCl: 8,50 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$: 1,34 g
Na $H_2PO_4 \cdot 2H_2O$: 0,39 g Aqua dest.: ad 1000 ccm.

4.1.4. Testseren

Die 84 Testseren, die uns freundlicherweise zugesandt wurden, umfassen fast alle bisher gefundenen tierischen Adenoviren. Für die Überlassung der Seren danke ich Frau Prof. Dr. B. Mayr (geb. Bibrack), Oberschleißheim; Herrn Dr. B. McC. Adair, Belfast; Herrn Dr. L. Bodon, Budapest; Herrn Prof. Dr. F. Bürki, Wien; Herrn Prof. Dr. S.S. Kalter, San Antonio-Texas sowie den Behringwerken, Marburg.
Die lyophilisierten Seren wurden mit den vorgeschriebenen

Tabelle 10: homologe Seren

Serotyp	Kanin.-Nr.	Herstellung	N-Titer Röhrchentest	N-Titer Mikroplatte
1	544	15.07.71	1:160	1:500
2	514	27.02.71	1:40	1:500
3	146	09.08.72	1:160	1:300
4	347	21.08.61	1:640	1:500
5	226	05.04.77	1:160	1:40
6	525	22.07.71	1:1280+	1:1280
7	208+504	24.01.73	1:320	1:1280
8	230	22.03.74	1:160	1:200
9	322	14.10.60	1:160	1:640
10	343	29.05.61	1:50	1:320
11	352	17.01.62	1:160	1:160
12	174	27.11.67	1:80	1:1000
13	644	20.06.64	1:500+	1:1280
14	341	29.05.61	1:160	1:320
15	346	21.08.61	1:160	1:320
16	214	17.05.73	1:640	1:640
16w	167	14.01.74	1:640	1:1280
17	348	21.06.61	1:160	1:1280
18	396	21.02.63	1:320	1:2560+
19	196	24.01.73	1:320	1:640
20	15	28.04.63	1:320	1:640
21	387	29.06.62	1:160	1:640
22	393	08.10.62	1:500+	1:1000
23	884	26.04.63	1:160	1:160
24	17	25.04.63	1:320	1:500
25	8	15.04.63	1:500	1:80
26	81 II	25.02.66	1:500+	1:80
27	13	13.04.63	1:500	1:640
28	397	17.04.63	1:160	1:640
29	169	01.02.74	1:160	1:2560+
30	198 III	29.09.66	1:160	1:160
31	171 III	21.04.69	1:40	1:320
32	381	01.02.71	1:20	1:640
33	126	04.07.67	1:16	1:320
34	263	20.12.76	1:640	1:200
35	261	20.12.76	1:640	1:500

Mengen Aqua dest. gelöst und dann auf die Gebrauchsverdünnung 1:5 mit PBS verdünnt. Die übrigen Daten über die verwendeten Seren sind Tabelle 11 zu entnehmen. In ihr sind in der letzten Spalte die Zahl der Antikörpereinheiten, die im Test verwendet wurden aufgeführt. Sie ergeben sich aus dem Quotienten von N-Titer und Verdünnungsgrad. Hierbei sind die Seren herauszuheben, die einen Quotienten von weniger als 20 aufweisen. Es handelt sich um die Seren mit den lfd. Nr. 63, 67, 70. Bei ihnen ist die Aussagekraft negativer Kreuzneutralisationstests geringer, da allgemein die Verwendung von ca. 20 Antikörpereinheiten für Kreuzneutralisationen gefordert wird, was mit diesen Seren nicht erreicht wird. Dabei ist Serum Nr. 70 mit 16 AK-Einheiten noch gut brauchbar.

4.1.5. Zellkultur

Verwendet wurden 3-4 Tage alte HeLa-Zellkulturen, in Roux-Flaschen mit Eagle's MEM + 5% Kälberserum als Nährmedium bei 37°C zum geschlossenen Zellrasen gewachsen. Nach ein- bis zweiminütiger Trypsinierung mit 0,25% Ca- und Na-freier Trypsinlösung und Ablösen der Zellen im Brutschrank wurden sie durch Auszählen in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer auf eine Dichte von $3 \cdot 10^5$ Zellen/mm^3 eingestellt. Diese Dichte wird auch von verschiedenen Autoren als optimal beschrieben (Furesz et al., 1972), während andere Wissenschaftler höhere Werte angeben (Sullivan und Rosenbaum, 1967; Hall et al., 1970);doch zeigten unsere Mikroröhrchen meist schon nach 48 Stunden einen dichtgewachsenen Zellrasen. Durch eine höhere Dichte wäre eine zu frühe Zelldegeneration unserer Meinung nach nur gefördert worden (Tan und Wigand, 1979).

Tabelle 11a: Testseren

Lfd.Nr.	Serotyp	Stamm	Herkunft	Ser.-Spender	Produkt-Datum
1	BAV-1	No.10	Wien	Kaninchen	1977
2	BAV-2	No.19	"	"	1969
3	BAV-3	WBR-1	"	"	1974
4	BAV-4	37/67	"	"	1977
5	BAV-5	B4/65	"	"	1973
6	BAV-6	209016	"	"	1973
7	BAV-7	Fukuroi	"	"	1973
8	BAV-8	Misk-8	"	"	1974
9	BAV-1	No.10	München	"	
10	BAV-2	No.19	"	"	
11	BAV-3	WBR-1	"	"	
12	BAV-4	THT/62	"	"	
13	BAV-5	B4/65	"	"	
14	BAV-6	671130	"	"	
15	BAV-7	RG	"	"	
16	BAV-8	KC-2	"	"	
17	BAV-1	WBR-50	Belfast		
18	BAV-2	No.19	"		
19	BAV-3	WBR-1	"		
20	BAV-4	15526	"		
21	BAV-5	B4/65	"		
22	BAV-6	671130	"		
23	BAV-7	Fukuroi	"		
24	BAV-8	Misk-67	"		
25	BAV-9	Sofia 4/67	"		
26	PAV-1	25R/13CL	"		
27	PAV-2	6618CL	"		
28	PAV-3	A-47CL	"		
29	PAV-4	München	"		
30	PAV-1	25-R	München		
31	PAV-2	6618	"		
32	PAV-3	A 47	"		
33	PAV-4	Ohio F618	"		

Tabelle 11b: Testseren

Lfd.Nr.	Lab.Nr.	Homol.N-Tit.	Menge	Toxizität	Verd.	AK
1	244		3 ml	keine	1:5	
2	359	1:1000	"	"	"	200
3	2291		"	"	"	
4	6134		"	"	"	
5	682	1:1024	"	"	"	200
6	365	1:8192	"	"	"	1640
7	546	1:4096	"	"	"	820
8	2292	1:8192	"	"	"	1640
9	96&97		"	"	"	
10	100		"	1:10	1:20	
11	64		1 ml	1:20	1:40	
12	66		2 ml	keine	1:5	
13	69	1:1024	"	"	"	200
14	92	1:8192	3 ml	1:80	1:400	20
15	94	1:4096	"	keine	1:5	820
16	70	1:8192	"	"	"	1640
17		1:9000	2 ml	1:10	1:20	450
18		1:1536	"	keine	1:5	300
19		1:12288	"	"	"	2450
20		1:3072	"	"	"	610
21		1:3072	"	"	"	610
22		1:18432	"	"	"	3690
23		1:4608	"	"	"	920
24		1:12288	"	"	"	2460
25		1:3072	"	"	"	610
26		1:3072	"	"	"	610
27		1:1152	"	"	"	230
28		1:1152	"	"	"	230
29		1:2034	1,5 ml	"	"	400
30			3 ml	"	"	
31			"	"	"	
32			"	"	"	
33			"	"	"	

Tabelle 11c: Testseren

Lfd.Nr.	Serotyp	Stamm	Herkunft	Ser.-Spender	Produkt-Datum
34	OAV-1	S-1	Belfast		
35	OAV-2	PX-515	"		
36	OAV-3	PX-611	"		
37	OAV-4	7769	"		
38	OAV-5	SAV	"		
39	MAV		München	Maus	
40	MAV (Peromyscus)		"		07.10.64
41	SAV-1	301	"	Kaninchen	08.65
42	SAV-2	646776	"	"	"
43	SAV-3	AP-4398	"	"	"
44	SAV-11	P-10	"	"	"
45	SAV-12	A-7644	"	"	"
46	SAV-13	P-9	"	"	04.66
47	SAV-1		Texas	Pferd	1966
48	SAV-2		"	Ziege	1967
49	SAV-3		"	"	"
50	SAV-4		"	Pferd	1966
51	SAV-5	P-4	"	"	
52	SAV-6		"	Ziege	1968
53	SAV-7	8054-2WN	"	Pferd	12.66
54	SAV-8	P-5	"	Ziege	09.07.67
55	SAV-9		"	"	1968
56	SAV-10		"	"	
57	SAV-11	P-10	"	"	09.07.67
58	SAV-12		"	"	1967
59	SAV-13		"	"	1968
60	SAV-14		"	"	"
61	SAV-15		"	Kaninchen	10.08.70
62	SAV-16	C-8	"	Ziege	1967
63	SAV-17	B-105	"	Kaninchen	11.12.68
64	SAV-18	C-626	"	"	03.04.69
65	SAV-19	AA-152	"	"	22.12.69
66	SAV-20		"	"	1967

Tabelle 11d: Testseren

Lfd.Nr.	Lab.Nr.	Homol.N-Tit.	Menge	Toxizität	Verd.	AK
34		1:18432	2 ml	keine	1:5	3690
35		1:36874	"	"	"	7370
36		1:36874	"	"	"	7370
37		1:1536	"	"	"	300
38		1:1536	1 ml	"	1:10§	150
39	16006		2 ml	"	1:5	
40	E-20308		1 ml	"	1:10§	
41	V401-501-065		"	"	"	
42	V406 " "		"	1:10	1:40	
43	V408 " "		1,5 ml	keine	1:5	
44	V423 " "		1 ml	1:10	1:40	
45	V424 " "		"	1:5	1:20	
46	V426 " "		"	"	"	
47	1601-661	1:1280	2 ml	keine	1:5	250
48	1611-641	1:640	"	"	"	130
49	1615-641	1:2560	"	"	"	510
50	1617-661	1:640	"	"	"	130
51	Pferd Nr.80	1:320	"	"	"	60
52	1623-641	1:1280	"	"	"	250
53	Pferd Nr.76	1:320	"	"	"	60
54	Ziege C-24	1:320	"	"	"	60
55	1631-641	1:640	"	"	"	130
56	S807/808	1:1280	"	"	"	250
57	Ziege C-18	1:2560	"	"	"	510
58	1634-641	1:320	"	"	"	60
59	1636-641	1:1280	"	"	"	250
60	1637-641	1:320	"	"	"	60
61	Kanin.371	1:160	"	"	"	30
62	Ziege C-9	1:320	"	"	"	60
63	NCI	1:320	"	1:20	1:80	4
64		1:320	"	keine	1:5	60
65	308&309	1:2560	"	"	"	510
66	1734-591	1:640	"	"	"	130

Tabelle 11e: Testseren

Lfd.Nr.	Serotyp	Stamm	Herkunft	Ser.-Spender	Produkt-Datum
67	SAV-21	Berta	Texas	Kaninchen	02.09.70
68	SAV-22	CV-23	"	"	28.11.69
69	SAV-23	CV-32	"	"	11.06.69
70	SAV-24	CV-33	"	"	11.06.69
71	PAN-9	CV-68	"	"	26.05.72
72	LAV-1		Budapest	"	
73	LAV-1		"	"	
74	CAV-1		Marburg		21.11.77
75	CAV-1		München		
76	FAV-1		"		01.06.67
77	FAV-1	OTE	Belfast		03.01.73
78	FAV-2	SR-48	"		14.01.73
79	FAV-3	SR-49	"		
80	FAV-4	KR-5	"		15.03.73
81	FAV-5	340	"		14.11.72
82	FAV-6	CR-119	"		08.12.72
83	FAV-7	YR-36	"		21.03.73
84	FAV-8	Hung-VI	"		27.07.77

Tabelle 11f: Testseren

Lfd.Nr.	Lab.Nr.	Homol.N-Tit.	Menge	Toxizität	Verd.	AK
67	311&312	1:640	2 ml	1:40	1:80	8
68	277&278	"	"	keine	1:5	510
69	279&280	1:320	"	"	"	60
70	281&282	1:1280	"	1:20	1:80	16
71	435&436	"	"	keine	1:5	250
72		1:256	5 ml	"	"	50
73		1:512	3 ml	"	"	100
74		1:3162	5 ml	"	"	
75	32		1,5 ml	"	"	
76	145/147		1 ml	"	1:20§	
77		1:9000	"	"	"	450
78		1:576	"	"	"	30
79		1:24000	"	"	"	1200
80		1:2000	1,5 ml	"	1:5	400
81		1:1000	2 ml	"	"	200
82		1:2000	1 ml	"	1:20§	100
83		"	1,5 ml	"	1:5	400
84		1:24000	2,5 ml	"	"	420

§Da ansonsten zu wenig Material für alle Versuche vorhanden gewesen wäre, mußten diese Seren auf eine Verdünnung von 1:10 oder 1:20 gebracht werden.

4.1.6. Mikroneutralisationstest (MNT)

Während das Mikroverdünnungsverfahren mit graduierten Ösen schon von Takatsy et al. (1954) beschrieben wurde, hat Sever (1962) es erstmalig auf die Gewebekultur adaptiert. Der MNT ist ein geeignetes Verfahren zur Abgrenzung der einzelnen Spezies gegeneinander. Überwiegend werden bei der Neutralisation Antikörper nachgewiesen, die gegen die nach außen gerichtete typenspezifische Determinante, das Hexon (ε) gerichtet sind (Norrby et al., 1976). Beim MNT wird die Neutralisation in Platten aus Plastikmaterial mit flachem Boden durchgeführt, deren Qualität das Wachstum der Kulturzellen ermöglicht. Aufgrund der Hemmung des CpE in Zellkulturen wird er ausgewertet (Rosenbaum et al., 1963). Dieses Verfahren ist auch bei Adenoviren angewandt worden (Furesz et al., 1972; Grimes et al., 1976; Tan und Wigand, 1979). Das Verfahren der MN setzt sich immer mehr durch, weil die Einsparung an Seren, Reagenzien, Zellkulturen und auch an Versuchs- und Arbeitszeit so vorteilhaft ist, daß manchmal keine andere Wahl bleibt (Fuccillo et al., 1969; Helmke et al., 1970). Bei den uns vorgegebenen Serummengen wären die Tests im Röhrchenverfahren unmöglich durchzuführen gewesen.
Verwendet wurden einzeln, steril verpackte Mikroneutralisationsplatten NUNCLON^{R} (A/S NUNC, Dänemark),für das Virusmaterial Einmaltropfer, Typ 50UL (Flow Laboratories, Bonn), einzeln steril verpackt, sowie Mehrfachtropfer der gleichen Firma für die Seren, das Medium und die Zellsuspension. Sie wurden im Versuch nach jedem Serum in Aqua bidest. durchgespült und nach jedem Versuch sterilisiert. Der MNT in den Hauptversuchen wurde als einfache Kreuzneutralisation ausgeführt. Dabei schloß jeder Versuch Zell-, Virus-, Testserum- und homologe Serumkontrollen ein, eine Virustitration in Zweierschritten über fünf Mikroröhrchen ausgehend von der Arbeitsverdünnung, sowie für jedes Virus

ein Mikroröhrchen für den Neutralisationstest mit seinem homologen Serum. Nach einstündiger Inkubation des Gemisches von Virus- und Serumverdünnung im Brutschrank bei 37°C unter CO_2-Begasung (ca. 5% CO_2-Anteil im handelsüblichen Brutschrank) wurde jedem Mikroröhrchen ein Tropfen (0,05 ml) der unter 4.1.5. beschriebenen Zellsuspension zugesetzt. Anschließend wurden die MN-Platten wieder in den CO_2-Brutschrank verbracht und bis zum Versuchsende meist bis zum 5. Tag dort belassen. Zwischenzeitliche Ablesungen wurden meist 2 bis 3 Tage nach Inokulation vorgenommen. Wenn beobachtete Neutralisationen auf einer Platte über den 5. Tag hinaus abgelesen werden sollten, wurde den Mikroröhrchen ein Tropfen Eagle's MEM + 5% Kälberserum als Erhaltungsmedium zugesetzt.
Als positiv und aussagekräftig wurde ein Ausbleiben des CpE nur dann angesehen, wenn die zugehörige Virustitration bei einer Verdünnung von 1:8 noch einen deutlichen CpE (ca. 25% veränderte Zellen) aufwies, die Viruskontrolle einen praktisch vollständigen CpE (bis 100% veränderte Zellen) zeigte und die übrigen "negativen" Neutralisationen mit diesem Virus mindestens um zwei Beurteilungseinheiten höher lagen als der betreffende Ansatz. Weiterhin sollte ein neutralisierter Ansatz am 2., 3. und 4. Tag möglichst keine, höchstens aber eine schwache Zunahme des CpE aufweisen.

Die Beurteilung des CpE-Typs wurde virusspezifisch vorgenommen unter Berücksichtigung der von Wigand und Bauer (1964) erarbeiteten Maßstäbe. Sie unterteilen die Typen in Rundzell- und Retraktionstypen, was zur Auswertung des CpE und damit zur Titerbestimmung wichtig ist.

4.2. Versuche und Ergebnisse

4.2.1. Toxizitätsbestimmung der Testseren

Die unter 4.1.4. hergestellten Serumverdünnungen wurden im

Wasserbad bei 56°C 30 min. lang inaktiviert. Komplement sowie etwaige wärmelabile, toxische Serumbestandteile, die das Versuchsergebnis verfälschen könnten, sollten dadurch unwirksam gemacht werden. Anschließend wurde in zwei Versuchen mit steigenden Serumverdünnungen (in Zweierpotenzen) jedes Testserum auf seine Toxizität für HeLa-Zellen bzw. sein Toxizitätstiter bis zu einer Weiterverdünnung von 1:8 (Endverdünnung also 1:40) bestimmt. Falls erforderlich wurde die Verdünnungsreihe in einem zweiten Versuch bis zu einer Endverdünnung von 1:320 verlängert. Die Ergebnisse beider Versuche sind aus Tabelle 11b,d,f zu ersehen.
Für die Testseren der lfd. Nr. 10, 11 und 14 wurde eine Adsorption an HeLa-Zellen zu Aufhebung ihrer Toxizität versucht.

4.2.1.1. Serumadsorption an HeLa-Zellen

Hierzu wurde eine konzentrierte HeLa-Zellsuspension von 10^7 Zellen/ml hergestellt. Als Medium diente Eagle's MEM + 5% Kälberserum. Je 0,5 ml der Testseren mit den lfd. Nrn. 10, 11 und 14 wurden mit einem Tropfen HeLa-Zellsuspension versetzt und zwei Stunden im Brutschrank bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde 10 min. bei 4500 U/min. zentrifugiert und der Überstand gewonnen. Dieser wurde erneut dem o. a. Verfahren unterzogen, wodurch sich ein zweifach adsorbiertes Serum als Überstand gewinnen ließ.
Eine erneute Toxizitätsbestimmung dieser zweifach adsorbierten Seren im Vergleich mit den ursprünglichen, nur inaktivierten Seren ergab in keinem Fall eine Herabsetzung der Toxizitätsschwelle. So wurden alle unter 4.2.1. als toxisch festgestellten Seren über ihre Toxizitätsschwelle hinaus weiterverdünnt. Die übrigen Seren wurden in der ursprünglichen Verdünnung von 1:5 verwendet.

4.2.2. Titerbestimmung der humanen Adenoviren

Die Virustitration wurde in Zweierschritten über acht Mikroröhrchen in Doppelreihen ausgeführt. Der Grenztiter war bei einem CpE von 25% angesetzt, der am dritten Tag nach Beginn des Versuchs erreicht sein sollte. Aus beiden, meist identischen Werten wurde das Mittel gezogen, das mit dem Mittelwert eines zweiten Versuchsdurchganges wiederum gemittelt den endgültigen Grenztiter ergab.
Das unterschiedliche Verhalten der homologen HAV-Titer im Mikroplattenverfahren und im Röhrchentest ist aus Tabelle 10 zu ersehen.
Die Arbeitsverdünnung betrug die achtfache Konzentration des ermittelten Grenztiters. Um eine ständige Kontrolle über die Wirksamkeit der Virusverdünnungen zu haben, wurde bei jedem Versuch ausgehend von der jeweiligen Arbeitsverdünnung eine Titrationsreihe in Zweierschritten über fünf Mikroröhrchen mitgeführt. Im Idealfall sollte das Virus bei einer Verdünnung von 1:2 noch einen CpE von ca. 100%, bei der Verdünnung 1:8 noch einen CpE von ca. 25% aufweisen. Auf diese Weise konnte die Virusdosis in jedem Versuch genau kontrolliert und gegebenenfalls für die weiteren Versuche korrigiert werden.

4.2.3. Identitätsbestimmung der HAV

Hierzu wurde in jedem Versuch das verwendete Virusmaterial mit den homologen Seren als Identitätsnachweis im NT angesetzt. Aus den Ergebnissen von Viruskontrolle, homologer Serumkontrolle und NT zwischen dem Virus und seinem homologen Serum ließ sich eindeutig die Identität des Virus belegen.

4.2.4. Bisher gefundene Kreuzneutralisationen

Positive Neutralisationen sind aus der Literatur zwischen HAV und den übrigen AV nur bei der Spezies Affe bekannt geworden.
Rowe et al. (1958) berichten von drei Neutralisationen
SAV-21-AS gegen HAV-14 (Titer 1:20)
SAV-10-AS gegen HAV-6 (Titer 1:20)
SAV-10-AS gegen HAV-8 (Titer 1:5).
Da in dieser Arbeit die gleichen Neutralisationsversuche vorgenommen werden, wird auf die Ergebnisse dieser Seren besonders zu achten sein, da sie zu einer Bestätigung jener Ergebnisse führen könnten, was einen erheblichen Aussagewert für die Beurteilung dieser Neutralisationen hätte.

4.2.5. Ergebnisse im Kreuzneutralisationstest

Der Test wurde dreimal nach den von Tan und Wigand (1979) ermittelten optimalen Versuchsbedingungen, nämlich Virusdosis, Zellzahl, Zellalter, Inkubationszeit und Ablesezeit von Serum und Virus durchgeführt. Wenige Versuche, bei denen der Versuchstiter zu stark ausfiel oder auch solche mit zu niedrigem Virustiter, wurden eliminiert, sodaß in jedem Fall wenigstens zwei gültige Tests auszuwerten waren. Die verschiedenen Virustypen erwiesen sich im Fortschreiten des CpE in den Mikrokulturen als unterschiedlich schnell, sodaß die Endablesung bei den Viren zu unterschiedlichen Zeiten vorgenommen wurde. Besonders langsam verhielt sich HAV-8, wie auch von Tan und Wigand (1979) beobachtet wurde. Aber auch HAV-12, 13, 23, 28 und 33 zeigten einen ähnlichen, wenn auch nicht so ausgeprägten Effekt. Platten, auf denen keine Neutralisation abgelaufen war, wurden bis zum vierten Tag abgelesen, während Neutralisationen teilweise bis zum sechsten oder siebten Tag abgelesen wurden, um einen etwaigen Durchbruch der Neutralisation mit Fortschreiten

des CpE zu registrieren. Dabei wurde festgestellt, daß sich das Mikroverfahren nur für eine Versuchsdauer bis zu ca. 6-8 Tagen eignet, weil darüber hinaus ein Ablesen durch die Zelldegeneration sehr erschwert oder unmöglich wird (Tan und Wigand, 1979).
Die Ergebnisse der NTs sind in der Tabelle 12 aufgeführt. Dabei wurden einige Neutralisationen festgestellt, die sich nicht in den beiden anderen Durchgängen wiederholten. Diese einmal auftretenden Neutralisationen gingen in die Tabelle 12 als "0" ein. Das in Tabelle 12d mit "+" eingegangene Ergebnis war in den anfänglichen Durchgängen mit positiven Neutralisationen mehrmals hervorgetreten. Alle drei Durchgänge zeigten beim Testserum lfd. Nr. 45 (SAV-12) gegen HAV-4 eine positive Neutralisation. Dann war das Serum verbraucht und eine Bestimmung des Neutralisationstiters war nicht mehr möglich. Die Neutralisation des Testserums Nr. 1 (BAV-1) gegen HAV-2 und 5 sowie die zwischen Testserum lfd. Nr. 11 (BAV-3) gegen HAV-16w in Tabelle 12a waren in den drei ersten Durchgängen mindestens zweimal deutlich positiv, zeigten aber bei der Titerbestimmung negative Ergebnisse, sodaß sie mit einem "+" ohne Titerangabe in die Tabelle eingingen.

4.2.6. Titerbestimmung bei aufgetretenen Kreuzneutralisationen

Bei Neutralisationen, die sich in ein- bis zweimaliger Wiederholung reproduzieren ließen wurde in einem weiteren Versuch der N-Titer bestimmt. Hierzu wurden Testserumverdünnungsreihen (Doppelreihen mit Verdünnungen in Zweierschritten) angelegt, ausgehend von der Verdünnung 1:5 bis 1:80. Ausgeführt und abgelesen wurde unter den in 4.1.6. genannten Bedingungen; d. h. es wurde die Methode nach Rowe auf das Mikroverfahren sinngemäß übertragen (Rowe et al., 1958). Die ermittelten N-Titer sind ebenfalls Tabelle 12 zu entnehmen. Testserum lfd. Nr. 7 (BAV-7) wurde in einer zweiten Ver-

dünnungsreihe (ebenfalls Doppelreihe mit Verdünnungen in Zeierschritten) zur N-Titerbestimmung bis 1:640 getestet.

4.2.7. Tabellarische Erfassung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der durchgeführten Kreuzneutralisationen sind den folgenden Tabellen zu entnehmen:

Tabelle 12a: Kreuzneutralisation BAV

HAV Spez.	Testserum lfd. Nr. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	+	–	–	–	–	–	–	0	–	–	0	0	–	0	–	–
3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
8	0	10	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	–	–	–
9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	–	–	–	–	–	20	320	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
13	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
14	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
15	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
16	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–
17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
18	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
19	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
21	0	–	0	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–
22	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
23	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
25	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
28	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
29	–	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
30	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
31	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
32	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
33	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
34	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	0	–	–
16w	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	0	–	–	0

BAV	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8

Tabelle 12b: Kreuzneutralisation BAV und OAV

HAV Spez.	Testserum lfd. Nr. 17	18	19	20	21	22	23	24	25	34	35	36	37	38
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	0
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	0	-	-	-	-	10	10	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-
16w	0	-	0	-	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-

BAV	1	2	3	4	5	6	7	8	9	OAV	1	2	3	4	5

Tabelle 12c: Kreuzneutralisation PAV, MAV, LAV und CAV

HAV Spez.	Testserum lfd. Nr. 26	27	28	29	30	31	32	33	39	40	72	73	74	75
1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–
7	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
8	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
9	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
13	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
14	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
15	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
16	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
18	0	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
19	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
21	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
22	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
23	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	10	20	20	10	–	–	–	–	–	–
25	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
28	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
30	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
31	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
32	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
33	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
34	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
16w	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

PAV	1	2	3	4	1	2	3	4	MAV	LAV	CAV

Tabelle 12d: Kreuzneutralisation SAV

HAV Spez.	Testserum lfd. Nr. 41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59
1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	–	–
3	–	–	–	–	–	–	–	10	–	–	–	–	–	–	0	0	20	0	>80
4	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6	–	–	–	–	–	–	10	–	–	–	10	0	–	–	–	40	–	–	80
7	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
8	–	–	0	–	0	–	–	0	5	–	–	–	–	0	–	–	10	10	10
9	–	–	–	–	0	–	–	0	0	–	–	0	0	0	0	0	10	10	0
10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	–	–	–	–	–	–	–	20	–	–	–	–	–	0	–	>80	0	0	80
12	–	–	–	–	–	–	–	40	–	–	20	–	40	–	0	0	–	40	20
13	0	–	–	–	–	–	–	10	–	–	0	–	0	–	–	–	0	0	40
14	–	–	0	–	–	–	0	0	0	0	0	0	0	–	0	0	0	–	10
15	–	–	–	–	–	–	–	5	–	–	–	0	–	–	–	0	0	–	10
16	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
18	–	–	0	–	–	–	–	40	–	0	20	–	20	0	–	0	>80	0	–
19	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
20	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	0	–	0	0	–
21	–	–	–	–	–	–	–	10	–	–	0	–	–	–	–	–	20	20	10
22	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
23	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
24	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0
25	–	–	–	–	–	–	–	5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
28	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	–	10	40	–	20
30	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	20	–	–	–	–	–	–	–
31	–	–	–	–	–	–	–	5	–	–	–	–	–	0	–	–	40	10	10
32	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
33	–	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
34	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35	–	–	5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0	–	–	–	0	–
16w	–	–	–	–	–	–	–	–	10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	20

SAV	1	2	3	11	12	13	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13

Tabelle 12e: Kreuzneutralisation SAV

HAV Spez.	Testserum lfd. Nr. 60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	20	-	0	-	-	-	-	-	0	-	-	-
9	0	-	0	-	-	-	-	-	0	0	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-
11	0	-	-	-	-	-	-	-	-	>80	-	-
12	40	-	-	-	0	0	-	-	-	-	-	-
13	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-
18	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	10	-	0	-	-	-	0	-	-	40	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

SAV	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25

Tabelle 12f: Kreuzneutralisation FAV

HAV Spez.	Testserum lfd. Nr. 76	77	78	79	80	81	82	83	84
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	0
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	0	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	10	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	0	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	0	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	0	-	-	-	-
27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	0	-	-	-	-
29	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16w	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FAV	1	1	2	3	4	5	6	7	8

5. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Feststellung, daß Kreuzneutralisationen zwischen immunologisch definierten Spezies eine erhebliche Variabilität zeigen (Ginsberg, 1962), kann bei der Betrachtung unserer Ergebnisse voll unterstützt werden. Diese Variabilität dürfte einerseits durch die Ungleichheit der Serumspendertiere und das Immunisierungsverfahren, andererseits durch Ungenauigkeiten bei der angewandten Technik der Neutralisation bedingt sein. Damit ist gemeint, daß verfahrenstechnische Zufallsfehler existieren, die eine Reproduzierbarkeit verhindern. Andererseits wird zu Herstellung der Seren mit Tieren gearbeitet, die als Individuen einer Normierung Grenzen setzen, indem sie auf die Stimulation durch Virusantigene unterschiedlich reagieren, was meistens unkontrollierbar bleibt. Somit ist schon vom Ansatz des Verfahrens her eine 100%ige Reproduzierbarkeit nicht möglich und darf auch nicht erwartet werden.

Zur Beurteilung der Kreuzneutralisationen ist die Kenntnis der homologen Titer sowie der AK-Einheiten wichtig, weil das Verhältnis von AK-Einheiten zu homologem Titer die Bedeutung einer Kreuzneutralisation bestimmt. Diese sind um so weniger bedeutsam, je niedriger der Kreuzneutralisationstiter im Vergleich zum homologen Titer liegt. Üblicherweise werden für Kreuzneutralisationen nur 20 AK-Einheiten verwendet. Werden wesentlich höhere AK-Einheiten eingesetzt, deckt man bei hochtitrigen Seren Kreuzneutralisationen auf, die bei niedrigen Serumtitern verlorengehen.

Eine isoliert auftretende Neutralisation gegen ein Virus, die bei einem anderen Serum der gleichen Spezies nicht auftritt, kann auf präexistierende Antikörper zurückzuführen sein. Die Existenz solcher Antikörper kann nur durch Überprüfung des zugehörigen Präserum ermittelt werden. Nur wenn das Präserum negativ im NT ausfällt, kann ein spezifischer AK, der durch die Immunisierung des Spendertieres erzeugt

wurde, sicher angenommen werden. Reagiert auch das Präserum positiv, handelt es sich beim Testserum um keine echte Kreuzneutralisation, da die neutralisierenden AK nicht während der Immunisierung des Spendertieres gebildet wurden. Andererseits zeigt sich damit aber, daß bei der betreffenden Tierspezies ein AV (oder ein anderes unbekanntes nicht identifiziertes Virus?) vorkommen muß, das mit dem betreffenden Humantyp verwandt ist.

Die auffälligste Neutralisation bei den BAV ist die zwischen BAV-7-AS (lfd. Nr. 7) und HAV-11. Bei ihr wurde ein hoher N-Titer von 1:320 (homol. Titer 1:4096) erreicht, der höchste in dieser Arbeit überhaupt. Ein Vergleich mit zwei weiteren Seren dieser Spezies anderer Herkunft (Stamm RG, lfd. Nr. 15, homol. Titer 1:4096; Stamm Fukuroi, lfd. Nr. 23, homol. Titer 1:4608), die beide in NT mit HAV-11 negativ reagierten, ergibt folgendes: Alle drei Seren besitzen annähernd die gleichen AK-Einheiten. Sie müßten demnach gleich empfindlich im NT reagieren. Weiterhin ist das Serum lfd. Nr. 23 ebenso wie Serum lfd. Nr. 7 vom Stamm Fukuroi. Somit ist die Neutralisation nicht für BAV-7, aber auch nicht für den Stamm Fukuroi typisch. Eine echte Verwandtschaft zum HAV-11 ist also auf jeden Fall auszuschließen. Eine Überprüfung des zum Serum lfd. Nr. 7 gehörenden Präserum könnte hier Klärung bringen. Insgesamt kann aber gesagt werden, daß diese Neutralisation trotz des hohen N-Titers nicht überbewertet werden darf.

Weiterhin sind noch bei BAV-6-AS (lfd. Nr. 6; 1640 AK-Einheiten) gegen HAV-11 und BAV-2-AS (lfd. Nr. 2) gegen HAV-8 Neutralisationen mit niedrigem Titer aufgetreten. Ebenso wie die Neutralisation von BAV-8-AS (lfd. Nr. 24; homol. Titer 1:12288; AK-Einheiten 2460) gegen HAV-9, die ebenfalls nur einen niedrigen Titer hat, treten die beiden o. a. Reaktionen nicht bei den beiden übrigen Seren derselben Virusspezies auf. Von drei Seren gegen dieselbe BAV-Spezies reagiert jeweils nur eines positiv, die beiden anderen zeigen

keine Neutralisation.Weiterhin fällt negativ ins Gewicht, daß zwei Seren mit hohen AK-Einheiten eingesetzt wurden, womit auch geringe Neutralisationen aufgedeckt werden.
Die Gruppe der BAV war demnach dreimal von verschiedenen Einsendern vertreten, somit wurde jede Spezies der BAV dreimal gegen HAV getestet. Die vier aufgetretenen Neutralisationen haben sich nicht durch die beiden anderen Seren bestätigt, wodurch ihre Bedeutung fraglich bleibt. Die BAV-AS zeigen also insgesamt wenig positive Reaktionen mit den HAV, wenn man das Verhältnis von 900 NT zu vier positiven Neutralisationen betrachtet. Die Übrigen nur einmal aufgetretenen Neutralisationen, die als "0" aus der Tabelle 12a und b zu ersehen sind, bleiben in der Auswertung ebenso wie die der noch folgenden Tabellen unberücksichtigt.
In der Gruppe der OAV traten drei positive Neutralisationen auf. Von diesen ragt OAV-2-AS (lfd. Nr. 35, homol. Titer 1:36874) mit einem Titer von 1:40 über die beiden anderen hinaus; OAV-1-AS (lfd. Nr. 34, homol. Titer 1:18432) gegen HAV-12 und OAV-2-AS (lfd. Nr. 35), die beide einen Titer von 1:10 aufwiesen. Da von jeder Spezies nur ein Serum vorlag, fehlt hier die Kontrolle, ob eine der aufgetretenen Neutralisationen mit einem anderen Serum derselben Spezies zu wiederholen wäre. Zudem sind die homologen Endtiter, d. h. also auch ihre AK-Einheiten sehr hoch. Bei der erstgenannten Neutralisation werden über 7000 AK-Einheiten eingesetzt, sodaß man schon deshalb nicht von einer vollwertigen Kreuzneutralisation sprechen kann.
Eine Betrachtung der PAV ergibt, daß auch bei dieser Tierart die Ergebnisse von zwei gegen den gleichen Typ hergestellten Immunseren in Bezug auf die HAV nicht übereinstimmten. Eigentümlicherweise reagierten alle Seren des einen Absenders mit HAV-24 mit einem Titer von 1:10 oder 1:20 (homol. Titer nicht bekannt). Bei den Spezies 1-3 waren die Stämme identisch (PAV-1: Stamm 25R; PAV-2: Stamm 6618; PAV-3: Stamm A47) während Spezies 4 durch zwei unter-

schiedliche Stämme vertreten war: lfd. Nr. 33: Stamm Ohio F-618; lfd. Nr. 29: Stamm München). Kein Serum der lfd. Nr. 26-29 zeigte mit HAV-24 eine Neutralisation. Somit kann für die Gruppe der PAV gesagt werden, daß zwischen ihren Antiseren und den HAV keine überzeugende Kreuzneutralisation besteht.
Mit den Seren von MAV, LAV und CAV war keine Neutralisation zu verzeichnen. Zwischen diesen Viren und den HAV sind im einseitigen NT also keine Gemeinsamkeiten festzustellen.

Bei den SAV lag einmal eine komplette Serumkollektion aller Spezies aus den USA vor, eine zweite, unvollständige Kollektion (Spezies 1-3 und 11-13) hatten wir aus München erhalten. Während bei den Seren aus München nur eine einzige Neutralisation (SAV-3-AS, lfd. Nr. 43 gegen HAV-35; Titer 1:5) auftrat, waren bei den 25 Seren aus den USA überraschend viele positive Neutralisationen aufgetreten. Gerade die eine o. a. Neutralisation konnte aber nicht bestätigt werden. Somit müssen wir bei den SAV genau wie bei den BAV und PAV eine fehlende Übereinstimmung registrieren. Bei den Seren aus den USA wurden vier Neutralisationen mit einem Titer größer als 1:80, drei mit einem Titer 1:80, elf mit einem Titer 1:40 und 36 mit einem niedrigeren Titer festgestellt. Noch eindrucksvoller wird die Anzahl der positiven Ergebnisse, wenn man die Seren aus den USA mit der Gruppe der BAV vergleicht. Auch in dieser Gruppe wurden 25 Seren getestet; somit stehen bei genau 900 NT den vier positiven Ergebnissen in der Gruppe der BAV 54 positive Ergebnisse bei den SAV gegenüber. Problematisch wird allerdings der Versuch einer Ordnung, einer Systematisierung dieser Ergebnisse. Festzustellen ist, daß die HAV-1, 2, 5, 7, 10, 16, 19, 22-24, 26-28, 32-34 und 35 mit den SAV-AS keine positiven Neutralisationen (die Neutralisation des HAV-35 durch das Serum lfd. Nr. 43 blieb hierbei unberücksichtigt), die HAV-4, 14, 17, 20, 25 und 30 jeweils nur eine Neutralisation bei einem SAV-AS bewirkten, während

die HAV-6, 8, 12, 18, 21, 29 und 31 vier und mehr Neutralisationen aufwiesen.
Andererseits kann für die SAV-AS festgestellt werden, daß die Seren der Spezies 4, 8, 15-22 und 24 keine, die Seren der SAV-1, 6 und 25 eine Neutralisation verzeichneten, während die Seren von SAV-2 und 11-14 zwischen fünf und zwölf Neutralisationen aufwiesen.
Das Testserum der lfd. Nr. 63 (SAV-17-AS) konnte mit nur vier AK-Einheiten wegen der hohen Toxizität getestet werden. Auch die Testseren lfd. Nr. 67 und 70 (SAV-21-AS und SAV-24-AS) sind mit ihren 8 bzw. 16 AK-Einheiten im NT nur bedingt aussagekräftig. Wie oben gesagt, müßte ein Serum mindestens 20 AK-Einheiten aufweisen, um eine mögliche Kreuzneutralisation nachzuweisen. Bei AK-Werten unter 20 ist das Serum so stark verdünnt, daß eine positive Neutralisation übersehen werden kann. Bei den übrigen AS aus den USA, die in einer Verdünnung von 1:5 untersucht wurden, liegen die homologen Titer zwischen 1:320 und 1:2560. Sie sind damit ausreichend stark in ihrem Gehalt an neutralisierenden AK, außerdem untereinander recht ähnlich, sodaß die Zahl der im Kreuztest einwirkenden AK-Einheiten mit Ausnahme der drei genannten Seren sowohl hoch wie auch untereinander vergleichbar ist.
Da in der Gruppe der SAV verhältnismäßig viele Neutralisationen auftraten, soll hier untersucht werden, ob von Seiten der HAV-Untergruppen gewisse Übereinstimmungen zu erkennen sind. Es ist daher von Interesse, die Kreuzreaktionen der SAV-Antiseren daraufhin zu analysieren, in wieweit Typen bestimmter Untergruppen bevorzugt betroffen werden oder Typen der gleichen Untergruppe öfters parallel reagieren. Beides gilt eindeutig für die Untergruppe IV (Typ 12, 18 und 31), bei der 7 SAV-Antiseren mit 2 oder 3 dieser Typen eine Neutralisation zeigen. Hierbei ist jedoch ergänzend festzustellen, daß diese 3 Typen auch untereinander deutliche Kreuzneutralisationen zeigen (Wigand, 1975), was für die

große Mehrzahl der anderen HAV nicht gilt.
Aus der Untergruppe III zeigen die beim Menschen häufig vorkommenden Typen 1, 2 und 5 überhaupt keine, der seltener auftretende Typ 6 dagegen 4 Reaktionen; eine gemeinsame Reaktion mit mehreren Typen der Untergruppe ist also nicht feststellbar. HAV-4 bildet für sich allein die Untergruppe V; es fand sich nur eine Kreuzneutralisation mit Serum 71. Bei der Untergruppe I (3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 16w) mit insgesamt 14 Kreuzreaktionen fand sich eine parallele Kreuzreaktion mit 5 der 9 untersuchten Stämme durch Serum 59. Schwieriger zu beurteilen ist die Untergruppe II. HAV-8 zeigte 5 Kreuzreaktionen, alle übrigen zusammen 14. Fünf Seren reagierten mit 2 bis 4 Typen dieser Untergruppe in verschiedenen Kombinationen. Bei der großen Zahl der Typen dieser Untergruppe könnte dies zufallsbedingt sein. Auffallend ist allerdings, daß eine gemeinsame Reaktion mit Typ 8 und 9 bei neun Seren beobachtet wurde, wenn man auch die fragliche Neutralisation mit einbezieht. Diese beiden Typen kreuzen untereinander im Hämagglutinationshemmungstest.

An dieser Stelle muß nochmal auf die Arbeit von Rowe et al. (1958) eingegangen werden als der einzigen, in der über positive Neutralisationen zwischen SAV-AS und HAV berichtet wird. Seine wichtigste Neutralisation SAV-21-AS mit HAV-14 können wir leider nicht bestätigen, da unser Serum lfd. Nr. 67 aufgrund seiner Toxizität auf 1:80 verdünnt weren mußte. Dadurch besteht die Möglichkeit, daß bei Verwendung von nur 8 AK-Einheiten der Verdünnungseffekt zu stark und eine schwache Kreuzreaktion nicht mehr nachweisbar ist. Die Autoren geben aber nur 1:20 als N-Titer in ihrer Arbeit an. Somit muß offenbleiben, ob es nur an der hohen Verdünnung liegt, oder ob auch in diesem Fall keine Übereinstimmung der Ergebnisse eingetreten wäre.
Ihr zweites Ergebnis (SAV-10-AS gegen HAV-6; Titer 1:10) bestätigen wir sogar mit dem höheren Titer 1:40. Dagegen fiel der NT SAV-10-AS gegen HAV-8 bei uns negativ aus. Somit

können wir aus der Literatur ein positives Ergebnis bestätigen, wenn auch offen bleiben muß, wie diese Tatsache bewertet werden soll.
Als letzte untersuchte Gruppe fielen die FAV bis auf eine Ausnahme negativ aus. Die Gemeinsamkeiten der AV der Vögel mit denen der Mammalia sind zu klein, als daß man positive Neutralisationen hätte erwarten sollen. Die einzige positive Neutralisation besteht beim FAV-4-AS gegen HAV-9 mit dem niedrigen Titer 1:10 (homol. Titer 1:2000; 400 AK-Einheiten). Aufgrund dieser doch recht hohen AK-Konzentrationen dürfte diesem Ergebnis kaum eine Bedeutung zukommen, zumal ein weiteres Serum zur Überprüfung dieses Ergebnisses fehlt.
Insgesamt scheint es, daß die AS gegen animale AV im NT mit den HAV je nach Tierart oder Tiergruppe in unterschiedlichem Maße reagieren. Eine Hypothese, nach der die AV umso mehr serologische Verwandtschaft miteinander zeigen, je näher die Wirte selbst nach ihrer Evolution einander stehen, wird durch unsere Befunde gestützt: Es fand sich keine überzeugende Kreuzreaktion mit AV der Vögel, mäßig viele mit denen der Wiederkäuer und Schweine und sehr viele mehr mit denen der Affen.
Auch die Untersuchungen der im Literaturteil dieser Arbeit (siehe Einleitung) aufgeführten Autoren scheinen unsere Hypothese zu bestätigen. So wird vorwiegend bei Affen das Vorhandensein von AK gegen HAV mitgeteilt. Ebenfalls werden von einigen Autoren positive Reaktionen zwischen humanen Hyperimmunseren und SAV gemeldet. Inwieweit eine Unterscheidung zwischen den Schimpansen und den übrigen Affen getroffen werden kann, bleibt nach Betrachtung der Ergebnisse fraglich.
Obige Hypothese könnte jedoch heute schlüssiger durch Untersuchungen über die Homologie der DNS der Viren geprüft werden. Es würden die Gesamtheiten der Genome miteinander verglichen, während nur ein kleiner Teil des Genoms für die bei der Neutralisation wirkenden Antigendeterminanten verantwortlich ist.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Der Neutralisationstest (NT) ist das aussagekräftigste Verfahren zur Überprüfung der Eigenständigkeit einer Adenovirusspezies. Einleitend wird über das Verhalten der Adenoviren (AV) im NT berichtet, nämlich innerhalb ihrer Wirtsgruppe und zwischen den Gruppen. Antiseren mit neutralisierenden Antikörpern gegen Adenoviren verschiedener Tiere werden im Neutralisationstest gegen die Prototypstämme der humanen Adenoviren 1 bis 35 untersucht. Antiseren gegen nahezu alle bekannten Spezies der Adenoviren von Rindern, Schafen, Schweinen, Affen und Vögeln sowie solche gegen die einzigen eindeutig definierten Spezies vom Hund, Kaninchen, Maus und Peromyscus standen zur Verfügung. In einer Reihe von Fällen waren 2 oder sogar 3 Antiseren je Spezies vorhanden. Diese Seren wurden zunächst auf ihre Cytotoxizität für HeLa-Zellen in der Mikrokultur geprüft. Die Neutralisationstests wurden im Mikroplattenverfahren gleichfalls mit HeLa-Zellen durchgeführt, wobei die Viren mit etwa 8 CpE-Einheiten eingesetzt wurden. Seren, die eine Neutralisation aufwiesen, wurden erneut zur Bestimmung des N-Titers getestet. Dieser wird in der Besprechung mit den homologen Titern verglichen, sofern diese bekannt sind.

Es fanden sich keine Kreuzreaktionen bei den Seren gegen die Spezies vom Hund, Kaninchen, Maus und Peromyscus; nur eine unbedeutende bei den AV des Huhnes; mäßig viele mit den Seren der Rinder, Schafe und Schweine. Sehr viel mehr positive Reaktionen auch mit höheren Titern fanden sich dagegen bei den AV der Affen. Eine eindeutige Zuordnung dieser Neutralisationen zu den Untergruppen der SAV oder HAV konnte nicht vorgenommen werden.

Insgesamt scheint der Verwandtschaftsgrad der Adenoviren, wie er sich im NT zeigt, mit der biologischen Verwandtschaft der Wirtstiere korreliert zu sein.

Summary

Immunological Relationships between Adenoviruses of Animals and Man, as Shown by Neutralisation

The neutralization test (NT) is the most relevant procedure to prove the identity of an adenovirus (AV) species.
In the introduction, the relations of AV in NT within their host groups and between these groups are reported from the literature.
Antisera prepared against AV of various animals were investigated by NT against prototype strains of human adenovirus 1 to 35. Antisera of almost all known species of AV from cattle, sheep, pigs, monkeys and birds, also antisera of the only distinct AV species from dog, rabbit, mouse and peromyscus were available. In a number of cases, two or even three antisera per species were studied. At first, the sera were tested for cytotoxic effects for HeLa cells in microtiter plates. The NTs were also performed by the microplate procedure with HeLa cells. Viruses were diluted to contain about 8 CpE units per microtube. The results from three NTs were evaluated. Neutralizing sera were titrated to determine their neutralization titers, which were compared with respective homologous titers, whenever these were known.
No cross reactions were seen with sera of dog, rabbit, mouse and peromyscus AV, only one minor cross neutralization with avian AV, a moderate number of reactions with sera of AV from cattle, sheep and swine. However, a large number of positive reactions, some of them with appreciable titers, were found with simian AV. A definite pattern of these cross-reactions, allowing to attribute them to certain species of subgroups of simian or of human AV, did not emerge. On the whole, the relatedness of AV shown by NT appears to be correlated to the biological relationship of their hosts.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAIR, B.McC., J.B. McFerran, 1976: Comparative serological studies with mammalian adenoviruses.
Arch. of Virol., 51, 319-325.

2. AFSHAR, A., 1969: The occurence of precipitating antibodies to bovine adenoviruses in sera of farm animals and man in Iran.
Vet. Rec., 84, 571-572.

3. AHMED, A.A.S., 1971: CELO-Virusinfektion bei Puten.
Berl. und Münch. Tierärztl. Wochenzeitschr., 84,211-213.

4. ASHER, D.M., J.J. Hooks, H.L. Amyx, P.N. Luber, L.V.S. Asher, C.J. Gibbs jr., D.C. Gajdusek, 1978: Persistent shedding of adenovirus in urine of chimpanzees.
Inf. Immun., 21, 129-134.

5. AULISIO, C.G., D.C. Wong, J.A. Morris, 1964: Neutralizing antibody against simian viruses, SV-5 and SV-20 in human sera.
Proc. Soc. exp. Biol., 117, 6-11.

6. BARTHA, A., 1969: Proposal for Subgrouping of bovine adenoviruses.
Acta Vet. Acad. sci. Hung., 19, 319-321.

7. BARTHA, A., P. Aldasy, 1966: Further two serotypes of bovine adenoviruses.
Act. Vet. Acad. sci. Hung., 16, 107-108.

8. BARTHA, A., S. Mathe, P. Aldasy, 1970: New serotype 8 of bovine adenoviruses.
Acta. Vet. Acad. sci. Hung., 20, 399-400.

9. BASNIGHT, M., N.G. Rogers, C. Gibbs, D.C. Gajdusek, 1971: Charakterization of four new adenovirus serotypes isolated from chimpanzee tissue explants. Am. J. of Epidemiology, 94, 166-171.

10. BAUER, K., H. Müller, S. Gürtürk, 1975: Isolierung eines Virus von Schafen und seine Einordnung als neuer Serotyp oviner Adenoviren. Zbl. f. Vet. Med. B., 22, 656-665.

11. BECH, V., 1959: Canine hepatitis virus: Attemps to find relationship with human hepatitis. Proc. Soc. exp. Biol., 100, 135-137.

12. BIBRACK, B., 1965: Isolierung und Charakterisierung eines Adenovirus aus Nieren vom Schwein. Vet. Med. Dissertation, München.

13. BIBRACK, B., 1969: Untersuchungen über die serologische Einordnung von neun in Bayern aus Schweinen isolierten Adenovirus-Stämmen. Zbl. f. Vet. Med. B., 16, 327-334.

14. BURMESTER, B.R., G.R. Sharpless, A.K. Fontes, 1960: Virus isolated from avian lymphomas unrelated to lymphomatosis virus. J. nat. Cancer Inst., 24, 1443-1447.

15. CARMICHAEL, L.E., F.D. Barnes, 1961: Serological comparisons between infektious canine hepatitis virus and human adenovirus types. Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 107, 214-218.

16. CLARKE, M.C., H.B.A. Sharpe, J.B. Darbyshire, 1967: Some charakteristics of three porcine adenoviruses. Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 21, 91-97.

17. CSONTOS, L., 1967: Isolation of adenoviruses from geese. Acta. Vet. Acad. sci. Hung., 17, 217-219.

18. DARBYSHIRE, J.H., P.S. Dawson, P.H. Lamont, D.C. Ostler, H.G. Pereira, 1965: A new adenovirus serotyp of bovine origin. J. Comp. Path., 75, 327-330.

19. DARBYSHIRE, J.H., M.C. Clarke, A.P. Collins, 1975: Serological and pathogenicity studies with some unclassified porcine adenoviruses. J. Comp. Path., 85, 437-443.

20. DULBECO, R., M. Vogt, A.G.R. Strickland, 1956: A study of the basic aspects of neutralization of two animal viruses, western equine encephalitis virus and poliomyelitis virus. Virology, 2, 162-205.

21. EUGSTER, A.K., S.S. Kalter, C.S. Kim, M.E. Pinkerton, 1969: Isolations of adenoviruses from baboons (Papio sp.) with respiratoric and enteritic infections. Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 26, 260-270.

22. FENNER, F., 1976: Classification and nomenclature of viruses. Intervirology, 7, 1-116.

23. FUCCILLO, D.A., L.W. Catalano, F.L. Moder, D.A. Debus, J.L. Sever, 1969: Minicultures of mammalian cells in a new plastic plate.
Appl. Microbiol., 17, 619-622.

24. FURESZ, J., R.E. Armstrong, F.P. Nagler, 1972: Adenovirus serum neutralization in micro-tissue culture of rhesus monkey kidney cells.
Can. J. Microbiol., 18, 1603-1606.

25. GINSBERG, H.S., 1962: Identification and classification of adenoviruses.
Virology, 18, 312-314.

26. GREEN, M., J.K. Mackey, W.S.M. Wold, P. Rigden, 1979: Thirty-one human adenovirus serotypes (HAV 1-31) from five groups A-E based upon DNA genom homologies.
Intervirology (in press).

27. GRIMES, T.M., D.J. King, 1977: Serotyping avian adenoviruses by a microneutralization procedure.
Am. J. Vet. Res., 38, 317-321.

28. GRIMES, T.M., D.J. King, S.H. Cleven, 1976: Application of microtiter cell-culture method to characterization of avian adenoviruses.
Avian Dis., 20, 299-310.

29. GUENOV, Iv., Kr. Sartmadshiev, Iv. Schopov, Z. Shljabinkov, W. Fjodorov, 1970: Neuer Serotyp-9 der Adenoviren des Rindes.
Zbl. f. Vet. Med. B., 16, 1064-1066.

30. GUENOV, Iv., Iv. Schopov, Z. Shljabinkov, Kr. Sartmadshiev, W. Fjodorov, S. Simeonov, 1969: Untersuchungen zur Differenzierung von aus klinisch gesunden Kälbern isolierten Adenoviren.
Zbl. Vet. Med., 16, 335-340.

31. HAIG, D.A., D.C. Clarke, M.S. Pereira, 1964: Isolation of an adenovirus from a pig.
J. Comp. Path., 74, 81-87.

32. HALL, C.E., M.K. Cooney, J.P. Fox, 1970: The seattle virus watch programm I.
Am. J. of Public Health, 60, 1456-1459.

33. HARDEN, T.J., R.R. Pascoe, P.B. Spradbrow, 1972: Isolation of an adenovirus from an arab foal.
Austr. Vet. J., 48, 478-479.

34. HARTLEY, J.W., W.P. Rowe, 1960: A new mouse virus apparentley related to the adenovirus group.
Virology, 11, 645-647.

35. HASHIMOTO, K., T. Sugiyama, S. Sasaki, 1967: A adenovirus isolated from the feces of mice.II.
Jap. J. Microbiol., 11, 33-42.

36. HEBERLING, R.L., 1972: The simian adenoviruses.
Pathology of simian primates, part II, 572-591, Karger, Basel.

37. HELMKE, R.J., R.L. Heberling, S.S. Kalter, 1970: Technique for viral neutralization antibody surveys in primary microcultures.
Appl. Microbiol., 20, 986-988.

38. HILLEMANN, M.R., J.H. Werner, 1954: Recovery of a new agent from patients with acute respiratory illness. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 85, 183-188.

39. HILLIS, W.D., A.C. Garner, A.J. Hillis, 1969: A new simian adenovirus serologically related to human adenovirus type 2 from a chimpanzee with "viral hepatitis".
Am. J. Epidem., 90, 344-353.

40. Hillis, W.D., A.W. Holmes, V. Davison, 1968: Serologic charakterization of adenoviruses isolated from chimpanzees associated with viral hepatitis.
Proc. Soc. exp. Biol., 129, 366-369.

41. HULL, R.N., 1968: The simian viruses.
Virol. Monogr., Vol. 2, (Springer Verlag, N.Y.), 1-16.

42. HULL, R.N., 1969: The significance of simian viruses to the monkey colony and the laboratory investigator.
Ann. N.Y. Acad. sci., 162, 472-482.

43. HULL, R.N., J.R. Minner, C.C. Mascoli, 1958: New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells. III. Recovery of additional agents both from cultures of monkey tissues and directly from tissues and excreta.
Am. J. of Hyg., 68, 31-44.

44. HULL, R.N., J.R. Minner, J.W. Smith, 1956: New viral agents recovered from tissue cultures of monkey kidney cells. I. Origin and properties of cytopathogenie agents SV-1, SV-2, SV-4, SV-5, SV-6, SV-11, SV-12 und SV-15.
Am. J. of Hyg., 63, 204-215.

45. KALETA, E.F., 1969: CELO-Virus bei Gänseküken.
Deutsche tierärztl. Wochenschrift, 76, 421-444.

46. KALTER, S.S., D. Ablaski, C. Espana, R.L. Heberling, R.N. Hull, E.H. Lennette, H.H. Malherbe, S. McConnell, D.S. Yohn, 1977: Simian virus nomenclature.
Board of the WHO/FAO programm on comparative Virology: Simian virus working team.

47. KALTER, S.S., R.L. Heberling, 1971: Comparative virology of primates.
Bact. Reviews, 35, 310-364.

48. KAPSENBERG, J.G., 1959: Relationship of infections canine hepatitis virus for human adenovirus.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 101, 611-614.

49. KAWAMURA, H., F. Shimizu, H. Tsubahara, 1964: Avian adenovirus: its properties and serological classification.
Nat. J. anim. Hlth. Quart., 4, 183-193.

50. KHANNA, P.N., 1964: Studies on cytopathogenic avian entero viruses. I.
Avian Dis., 8, 632-637.

51. KHANNA, P.N., 1966: Occurence of avian adenoviruses in Hungary.
Acta. Vet. Acad. sci. Hung., 16, 351-356.

52. KIM, C.S., E.A. Sueltenfuss, S.S. Kalter, 1967: Isolation and characterization of simian adenoviruses isolated in association with an outbreak of pneumo-enteritis in vervet monkeys (Cercopithecus aetioos). J. inf. Dis., 117, 292-300.

53. KLEIN, M., 1962: The relationship of two bovine adenoviruses to human adenoviruses. Ann. New York Acad. sci., 101, 493-497.

54. KLEIN, M., E. Early, J. Zellat, 1959: Isolation from cattle of a virus related to human adenovirus. Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 102, 1-4.

55. KLEIN, M., J. Zellat, T.C. Michaelson, 1960: A new bovine adenovirus related to human adenovirus. Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 105, 340-342.

56. MACKEY, J.K., W.S.M. Wold, P. Rigden, M. Green, 1979: Transforming region of groups A, B and C adenoviruses. J. of Virol. (in press).

57. MAYR, A., G. Wizigmann, B. Bibrack, P.A. Bachmann, 1970: A bovine adenovirus isolated from lymphnodes of cattle. Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 29, 271-273.

58. McFERRAN, J.B., B.McC. Adair, 1977: Avian adenoviruses-A review. Avian Pathol., 6, 189-217.

59. McFERRAN, J.B., B.McC. Adair, T.J. Connor, 1975: Adenoviral agents (CELO, QBV, GAL). An. J. Vet. Res., 36, 527-529.

60. McFERRAN, J.B., J.K. Clarke, T.J. Connor, 1972: Serological classification of avian adenoviruses.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 39, 132-139.

61. McFERRAN, J.B., R. Nelson, E.R. Knox, 1971: Isolation and characterization of sheep adenoviruses.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 35, 232-241.

62. McFERRAN, J.B., R. Nelson, M.M. McCracken, J.G. Ross, 1969: Viruses isolated from sheep.
Nature, 221, 194-195.

63. MOHANTY, S.B., 1971: Comparative study of bovine adenoviruses.
Am. J. of Vet. Res., 32, 1899-1905.

64. NORRBY, E., A. Bartha, P. Boulanger, R.S. Dreizin, H.S. Ginsberg, S.S. Kalter, H. Kawamura, W.P. Rowe, W.C. Russell, R.W. Schlesinger, R. Wigand, 1976: Adenoviridae.
Intervirol., 7, 117-125.

65. OLSON, N.O., 1950: A respiratory disease (Bronchitis) of quail caused by a virus.
In proceedings 54th Ann. Meeting U.S. Livestock Saint A., Arizona, 171-174.

66. PEREIRA, H.G., R.J. Huebner, H.S. Ginsberg, J. van der Veen, 1963: A short discription of the adenovirus group.
Virology, 20, 613-620.

67. PHILIPSON, L., U. Pettersson, U. Lindberg, 1975: Molecular biology of adenoviruses.
Virology Monographs, 14, Springer Verlag, Wien-N.Y..

68. PHILLIP, J.I.H., J.I. Sands, 1972: The isolation of bovine adenovirus serotype 4 and 7 in Britain.
Res. Vet. sci., 13, 386-387.

69. RAFAJKO, R.R., 1969: Studies on adenovirus type 12 strain variation. I. Cross-neutralization test.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 27, 301-306.

70. REEVES, W.C., R.P. Scrivani, W.E. Pugh, W.P. Rowe, 1967: Recovery of an adenovirus from a feral rodent peromyscus maniculatus.
Proc. Soc. exp. Biol., 124, 1173-1175.

71. ROLLE, R., A. Mayr, 1966: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, S. 591.

72. RONDHUIS, P.R., 1968: A new bovine adenovirus.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 25, 235-236.

73. ROSEN, L., S. Baron, J.A. Bell, 1961: Four newly recognized adenoviruses.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 107, 434-437.

74. ROSENBAUM, M.J., I.A. Phillips, E.J. Sullivan, E.A. Edwards, L.G. Miller, 1963: A simplified method for virus-tissue culture procedures in microtitration plates.
Proc. Soc. exp. Biol., 113, 224-229.

75. ROWE, W.P., J.W. Hartley, R.J. Huebner, 1958: Serotype composition of the adenovirus group.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 97, 465-470.

76. ROWE, W.P., R.J. Huebner, L.K. Gillmore, R. H. Parrott, T.G. Ward, 1953: Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med., 84, 57o-573.

77. ROWE, W.P., R.J. Huebner, J.W. Hartley, T.G. Ward, R.H. Parrott, 1955: Studies of the adenoidal-pharyngeal-conjunctival (APC) group of viruses.
Am. J. Hyg., 61, 197-218.

78. SCHEMPP, H., 1971: Zum Verhalten von Adenoviren bei Mensch und Tier.
Med. Dissertation, FU-Berlin.

79. SCOTT, M.L., 1974: A study of adenoviruses isolated from turkeys.
Ph. D. thesis. Queen's University, Belfast.

80. SCOTT, M.L., J.B. McFerran, 1972: Isolation of adenoviruses from turkeys.
Avian Dis., 16, 413-420.

81. SEVER, J.L., 1962: Application of a microtechnic to viral serological investigations.
J. Immunol., 88, 320-329.

82. SHARP, J.M., J.B. McFerran, A. Rae, 1974: A new adenovirus from sheep.
Res. Vet. sci., 17, 268-275.

83. SIEDENTOPF, H.A., W.E. Carlson, 1949: A comparative study of the fox encephalitis virus and the virus of infectious canine hepatitis.
J. Am. Vet. Med. Ass., 115, 109-111.

84. SMITH, K.O., W.D. Gehle, W.T. Kniker, 1970: Serologic evidence that infectious canine hepatitis virus commonly infects humans and is related to human adenovirus type 8.
J. Immunol., 105, 1036-1039.

85. SOIKE, K.F., F. Coulston, P. Day, R. Deibel, H. Plager, 1967: Viruses of the alimentary tract of chimpanzee.
Exp. Molec. Pathol., 7, 259-303.

86. STUDDERT, M.J., C.R. Wilks, L. Coggins, 1974: Antigenic comparisons and serologic survey of equine adenoviruses.
Am. J. of Vet. Res., 35, 693-699.

87. SULLIVAN, E.J., M.J. Rosenbaum, 1967: Methods of preparing tissue culture in disposable microplates and their use in virology.
Am. J. of Epidemiol., 85, 424-437.

88. SWANGO, L.J., W.L. Wooding, L.N. Binn, 1970: A comparison of the pathogenesis and antigenicity of infectious canine hepatitis virus and the A 26/61 virus strain (Toronto).
J. Am. Vet. Med. Ass., 156, 1687-1696.

89. TAKATSY, G., J. Furesz, E. Farkas, 1954: Studies on the quantitative relationship of influenza virusantibody union by means of a simple antibody absorption test.
Acta. physiol. Hung., 5, 241-254.

90. TAN, L.K., R. Wigand, 1979: Laboratoriumspraxis bei Adenoviren. VI. Makro- und Mikroneutralisation in HeLa-Zellkulturen.
Zbl. Bakt. Hyg. (in press).

91. TISCHER, I., P. Giesbrecht, H. Köhler, 1968: Charakterisierung eines Schweineadenovirus. I.
Zbl. f. Bakt., 206, 21-33.

92. TISCHER, I., H. Köhler, 1967: Charakterisierung eines Schweineadenovirus. II.
Zbl. f. Bakt., 206, 34-40.

93. TYRRELL, D.A.J., F.L. Horsfall, 1953: Neutralization of viruses by homologous immun serum. I.
J. Exp. Med., 97, 845-852.

94. VAN DER VEEN, J., A. Mes, 1974: Serological classification of two mouse adenoviruses.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 45, 386-387.

95. WADELL, G., 1979: Classification of human adenoviruses by SDS polyacrylamide gelelektrophoresis of structural polypeptides.
Intervirology (in press).

96. WIGAND, R., 1975: Terminal dilution purification of adenovirus prototypes and the antigenic relationship between types 4, 16 and 14.
Arch. of Virology, 49, 323-328.

97. WIGAND, R., H. Bauer, 1964: Über den cytopathogenen Effekt der Adenoviren des Menschen.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 14, 674-682.

98. WIGAND, R., H. Gelderblom, M. Özel, 1977: Biological and biophysical characteristics of mouse adenovirus, strain FL.
Arch. of Virol., 54, 131-142.

99. WIGAND, R., W. Meiser, 1969: Neutralization of adenoviruses by component antisera.
Arch. f. d. Ges. Virusforsch., 27, 112-114.

100. YATES, V.J., D.E. Fry, 1957: Obseravation on chicken embryo lethal orphan (CELO) virus.
Am. J. Vet. Res., 18, 657-660.

101. YATES, V.J., Y.O. Rhee, D.E. Fry, A.M. El Mishad, K.J. McCormick, 1976: The presence of avian adenoviruses and adeno associated viruses in healthy chickens.
Avian Dis., 20, 146-152.

8. LEBENSLAUF

Am 11.1.51 wurde ich, Hans-Friedrich Willimzik, in Celle/Niedersachsen als Sohn des Beamten Arthur Willimzik und seiner Frau Lotte, geb. Joswig geboren.
1954 verzogen meine Eltern nach Lüneburg, wo ich Ostern 1957 in die Volksschule eingeschult wurde. Mit Abschluß der 4. Klasse wechselte ich zum Gymnasium, wo ich am 28.5.70 auf dem vollhumanistischen Zweig mein Abitur bestand.
Im Anschluß arbeitete ich im städt. Krankenhaus Lüneburg, zuerst als Praktikant, dann als Hilfspfleger bis ich am 1.4.71 meinen Wehrdienst antrat, den ich als Sanitäter ableistete.
Nach meiner Entlassung vom Wehrdienst nahm ich das Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilian-Universität München zum WS 72/73 auf. Das 5. Fachsemester (WS 74/75) studierte ich an der Justus-Liebig-Universität Gießen, kehrte darauf nach München zurück und bestand das Staatsexamen 3. Teil am 6.10.77. Seit Oktober 77 bin ich approbierter Tierarzt.
Zum WS 77/78 begann ich in Homburg/Saar an der Universität des Saarlandes das Studium der Humanmedizin, parallel dazu mit meiner veterinärmedizinischen Promotionsarbeit bei Prof. Dr. R. Wigand am Institut für Mikrobiologie in Homburg.
Am 25.8.78 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab. Am 22.3.79 bestand ich den 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung und befinde mich zur Zeit im 3. klinischen Semester.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr möchte ich für Übernahme und Einreichen dieser Dissertation herzlich danken.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. R. Wigand für die Überlassung des Themas, die Anleitung und hilfreiche Unterstützung.

Gleichzeitig danke ich auch seinen medizinisch technischen Assistentinnen, Frau I. Maurer und Fräulein D. Keller für die immer freundliche Hilfe.

Dem Bundesministerium für Jugend, Familie und Gesundheit danke ich für eine Unterstützung mit Sachmitteln.